

# البكتيريا

الجزء الأول

دكتور

دكتور

مصطفى محمد الالبواهدب محمد عبد الفتاح دراجماني

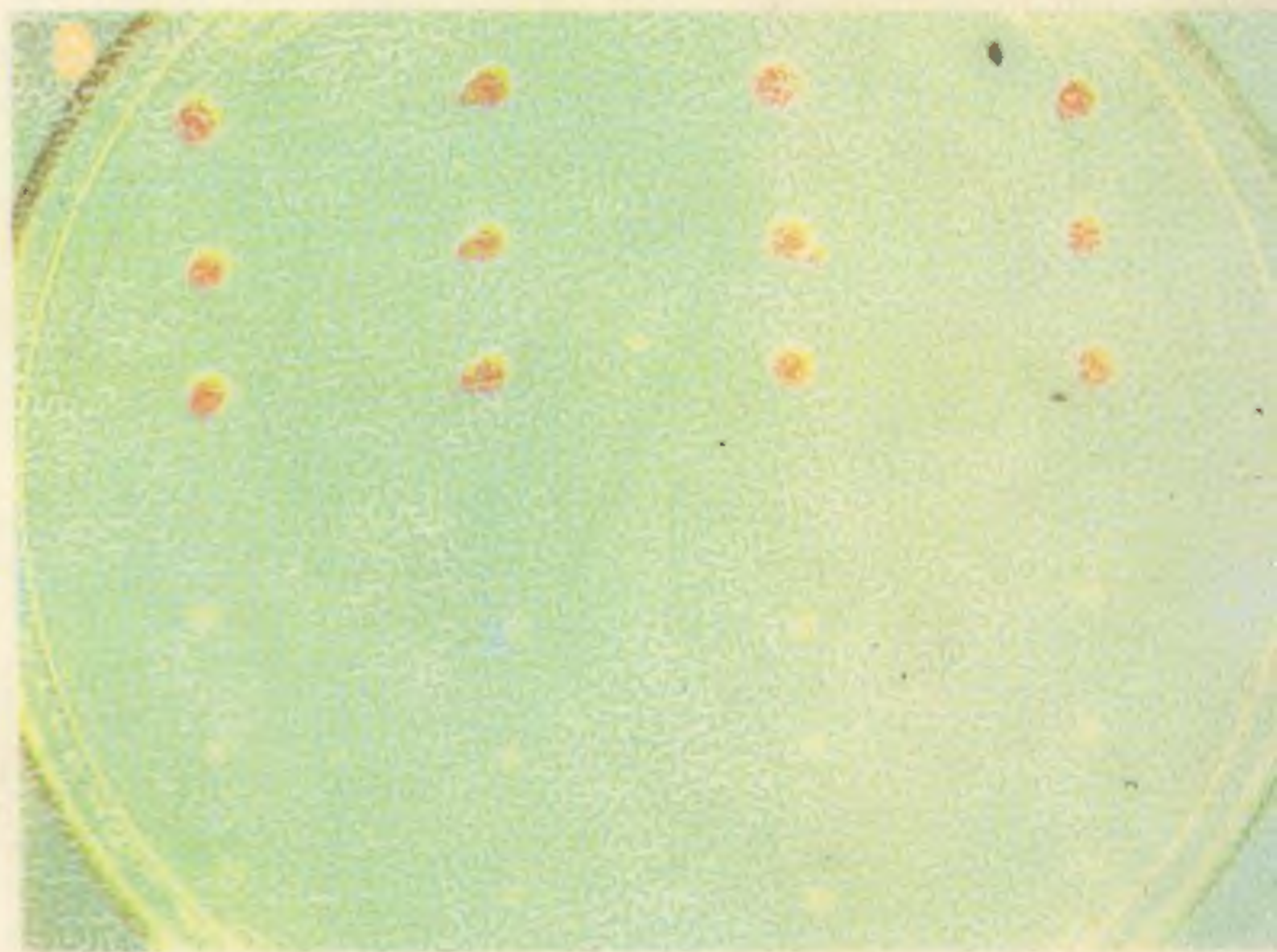
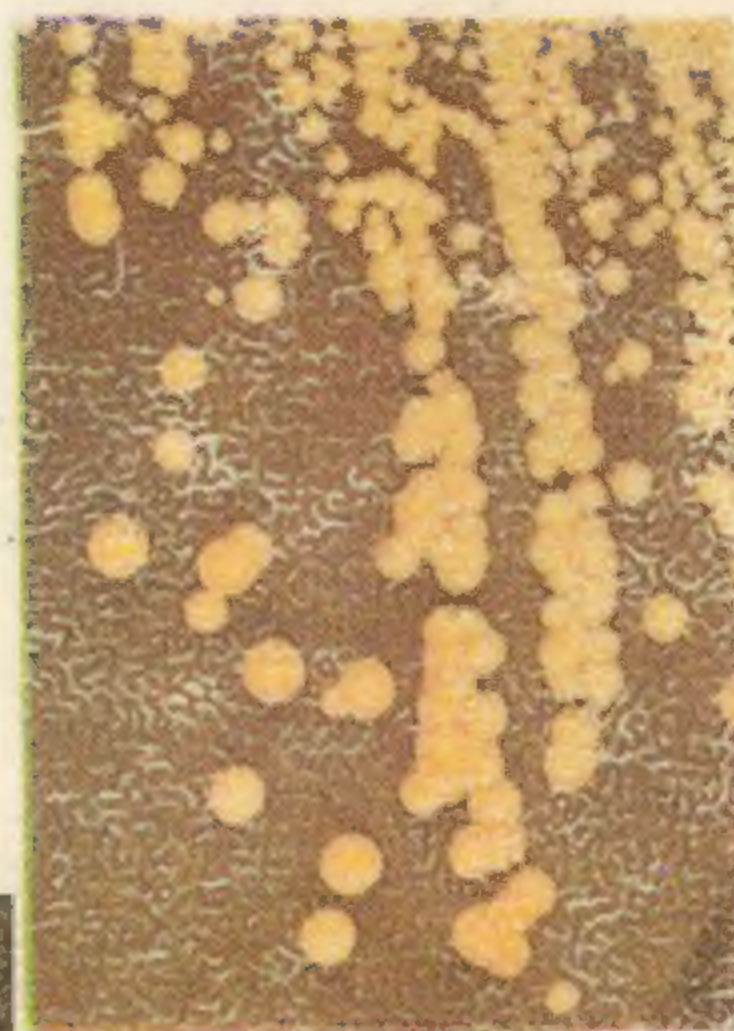
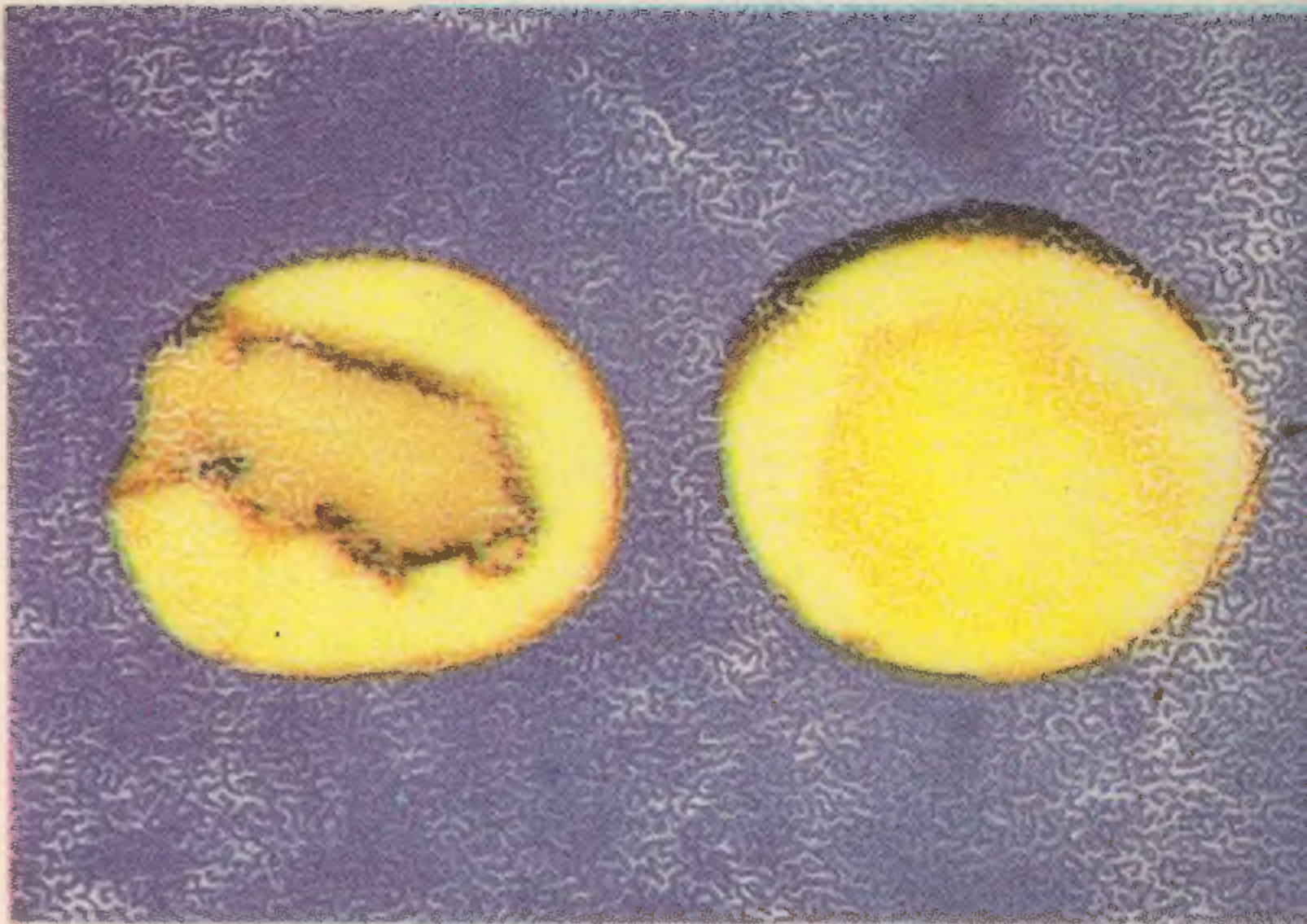
كلية الزراعة - جامعة الاسكندرية

الطبعة الثانية

١٩٨٤



دار المعارف







# البكتيريا

## الجزء الأول

٠٠٧٠٢

دكتور مصطفى كمال أبو الذهب    دكتور محمد عبد الفتاح دراجعاني  
كلية الزراعة - جامعة الإسكندرية

الطبعة الثانية

١٩٨٤



دار المعارف





بسم الله الرحمن الرحيم

### تقديم الطبعة الثانية

---

بسم الله الذى يعلم الخبء فى السموات والأرض ، نقدم الطبعة الثانية من هذا الكتاب ، «البكتيريا» ، بعد انقضاء قرابة عشرون عاما على الطبعة الأولى والى أعيد طبعها خلال هذه الفترة مرتين . وقد تعثرت هذه الطبعة ، وطال أمد اخراجها على غير ما كنا نرجو ونأمل .

والطبعة الثانية من هذا الكتاب ، لا تختلف عن ما جاء بالطبعة الأولى ، فى ترتيب أبوابها وتتابع فصولها ، لكن الأختلاف جاء فى بعض التفاصيل التى فرضتها مستجدات العلم وتطوره ، وحذف بعض المواضيع رأينا أنها لا تواكب النظريات الحديثة ، ونقل معظم المواضيع ، ذات الطبيعة العملية ، إلى مكانها فى الجزء الثانى من هذا الكتاب «التدريبات العملية» .

ولا نزعم أننا بذلك ، قد حققنا الغاية وبلغنا الكمال — فالكمال لله وحده — فلو أننا تتبعنا سبل الأبحاث العرم ، فى عصرنا الحديث ، وحاولنا أن يتضمنها هذا الكتاب عاما بعد عام ، بل يوما بعد يوم . لما قدر له أن يكون بين أيدينا ، كتابا يقرأ .

لكن على قدر علمنا ، أخرجنا هذا الكتاب ، متوخين البساطة فى العرض والتعبير آمليين أن يكون نافعا ومفيدا ، للدارسين والباحثين لهذا المجال من العلم دون ما اسهاب ممل ، أو اختصار مغل .

والله المستعان ، وهو ولى التوفيق ، ، ،

المؤلفان

يناير ١٩٨٤







بسم الله الرحمن الرحيم

## تقديم الطبعة الأولى

باسم الله الذى علم الإنسان ما لم يعلم ، أقدم كتابى هذا للزملاء والدارسين ولكل مهتم بعلم البكتريولوجيا كما أقدمه للمكتبة العربية حصيلة لدراسات سنوات طويلة تفرغت فيها لهذا العلم . بحثا واستقصاء وتدريسا .

ولست أخفى على القارئ أنه حين اختمرت فى ذهنى فكرة إصدار هذا الكتاب — وقدرت ما يستلزمه من جهد مضمّن — ليكون مرجعا وافيا شاملا جامعا لكل دقائق هذا العلم ، لست أخفى ، إلى ترددت وطال ترددى ولكنى استعنت بالله فأعاننى ، ووضعت قدمى فى أول الطريق وسرت فى رعايته غير مدخر وسعا ، ولا ضنينا بجهد حتى تم لى الفراغ منه على هذه الصورة بعد سنوات طويلة .

وعلم البكتريولوجيا من العلوم التى ظلت فترة طويلة يكتنفها الظلام الشديد ، ثم قيض الله لها رعيلا من العلماء والباحثين تصوفوا فى معاملهم ونذروا أنفسهم للبحث المتصل ليلا ونهارا حتى جاؤا غوامضه وأناروا دروبه ومسالكه وبددوا وحشة ظلامه ، وإذا بنا أمام عالم كبير يمجج بالبلايين من هذه الكائنات الحية الدقيقة التى نسميها البكتيريا . هذه الكائنات التى تلعب دورا من أهم الأدوار فى حياة الإنسان ، تنجح تارة إلى الشر والأذى فتسبب الكثير من الأمراض التى كان يقف الإنسان أمامها عاجزا يرى مصارع أبنائه وأصدقائه وأعز الناس عليه وهو مكتوف اليد مشلول الفكر ، وتميل تارة إلى الخير فتقوم بدور فعال فى إسعاد البشرية بما تقدمه للزراعة والصناعة والطب من خدمات جليلة .

وكان اكتشاف المجهر — الميكروسكوب — هو نقطة التحول ، استطاع به العلماء أن يتعرفوا على عالم البكتيريا ويجوسوا خلاله ويروا هذه الكائنات



الدقيقة ويتتبعوا حياتها ويرصدوا أشكالها وأجناسها وتأثرها بالبيئات التي تعيش فيها . وكلما تقدمت صناعة المجهر كلما كشفت أنواع من البكتيريا أدق وأصغر .

وبعد أعوام من المشقة والجهد استطاع هؤلاء العلماء في مختلف البلاد وهم عاكفون في آلاف من الصوامع - يسمونها المعامل - أن ينتصروا على هذه الكائنات الدقيقة ويمسكوا بزمامها فأتاحوا للنافع منها أن ينمو ويتكاثر ويساهم في ميادين الزراعة والصناعة والطب بما فيه سعادة البشرية وخيرها ، وكبحوا جماح الضرر منها وكسروا من عنقه وشرائسته ووقوا الناس شره .

وهذا الكتاب - في أبوابه الست - يتضمن الكثير من الأبحاث والدراسات ويشمل خلاصة ما وصل إليه العلم من حقائق وتطبيقات . وقد حاولت جهدي أن أقدمها للقارئ متناسقة مترابطة واضحة بالرسم وبالصور . وأرجو أن أكون قد وفقت لملء الفراغ الواسع في المكتبة العربية لناحية هامة من نواحي التخصص .

وإني إذ أقدم كتابي هذا ، أقدمه وأنا راض عنه كل الرضا - في غير تيه ولا خيلاء - فكلنا أمام الخالق المعجز ضعفاء ، وأمام العلم صغار لم يشبوا عن الطوق .

فإذا استطعت أن أنال به رضا القارئ فحسبي ذلك عوضا عن كل ما بذلت .

على أني التمس الصفح والمغفرة عن هنات بغير قصد ، أو أخطاء بغير تصويب ، ولله وحدة الكمال ، وهو ولي التوفيق .

دكتور مصطفى كمال أبو زيد أديب



# المحتويات

## الباب الأول

### الفصل الأول

الصفحة

تمهيد ..... ١

علم الكائنات الحية الدقيقة - الكائنات ذات النواة البدائية

(البروكاريوتات) - الكائنات ذات النواة الحقيقية (اليوكاريوتات)

ميكروبيولوجى التربة - ميكروبيولوجى الألبان - الميكروبيولوجيا

الصناعية - التلقيح الميكروبية للفضلات - مقاومة الحشرات -

ميكروبيولوجى المياه أو البحار - ميكروبيولوجى الفضاء -

الحرب الحيوية - توزيع الأحياء الدقيقة فى الطبيعة - المراجع

### الفصل الثانى

نبذة تاريخية ..... ١٣

التولد الذاتى - الخمير - النظرية الميكروبية - عزل البكتيريا

فى مزارع نقية - التحصين - الجراحة المعقمة - إضافات

أخرى - المراجع

## الباب الثانى

الخلية البكتيرية: الصفات المظهرية والتركيب الداخلى ..... ٢٩

### الفصل الأول

الصفات المورفولوجية ..... ٣١

حجم الخلايا البكتيرية - شكل وتجمع أو ترتيب الخلايا البكتيرية -

الصفحة

البكتيريا المستديرة - البكتيريا العصوية المستقيمة - البكتيريا ذات الشكل الحلزوني - الأشكال الأخرى للبكتيريا - الأكتينوميسينات - الكوريني بكتيريا - الميكوبكتيريا - البكتيريا الهلامية - المراجع ... ..

### الفصل الثاني

٤٣ التركيب الداخلي للخلية البكتيرية ... ..

أولا : السطح الخلوي - الغلاف - الجدار الخلوي - صبغة جرام - التركيب الكيميائي للجدار الخلوي - البكتيريا الموجبة لجرام - البكتيريا السالبة لجرام - غياب الجدار الخلوي ... ..  
ثانيا : البروتوبلاست - الغشاء السيتوبلازمي - الميتوسومات - الأجسام الكروماتينية أو النواة في البكتيريا - الأبيسومات والبلازميدات - الريبوسومات - حوامل الألوان - السيتوبلازم الذائب - حبيبات الجليكوجين - حبيبات الدهون - عديدة الفوسفات غير العضوي - قطرات الكبريت - المراجع ... ..

### الفصل الثالث

٨٥ حركة البكتيريا ... ..

تركيب السوط - الحركة في البكتيريا - حركة البكتيريا التي تفتقر للأسواط - حركة الأسبيروكيتات - زوائد البيلي - المراجع ... ..

### الفصل الرابع

١٠٥ الجراثيم الداخلية ... ..



التركيب الداخلى للجراثومة - الخلية الجراثومية - جدار الجراثومة -  
القشرة - الغشاء الخارجى - الغلاف الجراثومى - الأكسوسبوريم -  
موضع الجراثومة من الخلية - خطوات تكوين الجراثيم الداخلية -  
الأجسام المصاحبة للجراثيم - فسيولوجيا التجثر - التحكم فى  
التجثر البكتيرى - المراجع ... ..

### الباب الثالث

١٢٥ معيشة وتأقلم البكتيريا فى البيئات الطبيعية ... ..

### الفصل الأول

١٢٨ نمو وتكاثر البكتيريا ... ..

عملية التكاثر الخلوى - تقدير النمو البكتيرى - أولا : تقدير  
عدد الخلايا - ثانيا : تقدير الكتلة الخلوية - ثالثا : تقدير  
النشاط الخلوى - دورة النمو - أولا : طور الركود - ثانيا :  
طور النمو اللوغاريتمى - ثالثا : الطور الثابت - رابعا : طور  
تناقص النمو أو طور الموت - المزرعة المستمرة - المحاميع  
المختلطة - المراجع ... ..

### الفصل الثانى

١٥٧ الاحتياجات الغذائية ... ..

عوامل النمو - تقسيم البكتيريات من الوجهة الغذائية - بكتيريا  
مثلة للضوء ذاتية التغذية - بكتيريا ممثلة للضوء غير ذاتية التغذية -  
بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وذاتية التغذية - بكتيريا تقوم  
بالتمثيل الكيماوى وغير ذاتية التغذية - التغذية المختلطة - التداخل  
الغذائى بين الكائنات - التغذية والتطور - المراجع ... ..

### الفصل الثالث

- الظروف الفيزيائية التي تؤثر على نمو البكتيريا ... ١٧٤
- الحرارة — تأثير درجات الحرارة المنخفضة — تأثير درجات الحرارة المرتفعة — المقاومة الحرارية للجراثيم البكتيرية .  
والبكتيريا الترموفيلية — الضغط — الضغط الأسموزي —  
الأكسجين — تركيز أيون الأيدروجين — الأشعاع — المراجع ..

### الفصل الرابع

- تأثير العوامل الكيماوية على نمو وتكاثر البكتيريا ... ٢١٠
- طرق تقدير التأثير السام للمواد الكيماوية — أولا : طرق يستعمل فيها البيئات الغذائية السائلة — ثانيا : طرق تستعمل فيها البيئات الصلبة — الغشاء السيتوبلازمي — السيتوبلازم — التفاعل مع البروتين السيتوبلازمي — الفينول ومركباته — الكحولات — اليود — الهيبوكلوريتات — الكلورامينات — فوق أكسيد الأيدروجين — المعادن الثقيلة — الصبغات — الصابون والمركبات الحافظة للتوتر السطحي — مركبات الألمنيوم الكواتيرنارية — تأثير المواد الكيماوية نتيجة تعطيلها لعمليات أيضية معينة — المضادات الحيوية — مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية — الصفات الواجب توافرها في المضادات الحيوية — ثالثا : الأجسام الكروماتينية أو النواة — المراجع ...

### الباب الرابع

- وراثة البكتيريا ... ٢٥٧



## الفصل الأول

التطفر ..... ٢٦٠

الأدلة على حدوث الطفرات بالخلايا البكتيرية — اختبار  
التذبذبات — الأساس الجزيئي للتطفر — معدل التطفر — أنواع  
الطفرات البكتيرية — الطفرات البيوكيميائية — الطفرات التلوينية —  
الطفرات المختلفة في الصفات التخمرية — الطفرات المقاومة لتأثير  
المواد السامة — التطفر الذي يؤثر على الصفات المظهرية للاستعمرات  
أحداث الطفرات صناعيا — المراجع ..... ٢٦٠

## الفصل الثاني

التصنيفات غير التطورية ..... ٣٠٠

التحورات — التطبع — طرق التأقلم الأنزيمي — علاقة التطبع  
الأنزيمي بالوراثة — التطبعات المتلاحقة — تدخل مواد التفاعل  
في تكوين الأنزيمات التأقلمية — البلازميدات — المراجع ..... ٣٠٠

## الفصل الثالث

إعادة تشكيلات الصفات الوراثية في البكتيريا المتزاوجة جنسيا ..... ٣١٦

كيفية حدوث العبور بالكائنات الراقية — حدوث العبور بسلالة  
البكتيريا — ميكانيكية حدوث التكاثر الجنسي في البكتيريا —  
إنتشار ظاهرة إعادة التشكيل الوراثي بالبكتيريا المختلفة — بعض  
المواضيع التي تختبر عن طريق دراسة إعادة التشكيل الوراثي  
للبيكتريات — المراجع ..... ٣١٦

## الفصل الرابع

ظاهرة التحول الوراثي ..... ٣٣٥

الصفحة

ظاهرة التحول المعروفة باسم Transformation — التحولات  
المتضمنة طرزا غلافية متوسطة — التحولات الوراثية المتضمنة  
صفات أخرى غير صفة التغليف — ميكانيكية التحول — ظاهرة  
التحول المعروفة باسم Transduction — أهمية ظاهرتي  
التحول الوراثي في الدراسات البكتريولوجية المختلفة — المراجع .

### الباب الخامس

التفاعلات الأيضية البكتيرية ..... ٣٥٣

### الفصل الأول

الأنزيمات البكتيرية ..... ٣٥٥

طرق دراسة الأنزيمات البكتيرية — طبيعة الأنزيمات البكتيرية  
طبيعة النشاط الأنزيمي — أنواع الأنزيمات البكتيرية — أولا :  
الأكسدة والاختزال — ثانيا : التحلل المائي — ثالثا : إزالة  
مجاميع الأمين — رابعا : إزالة مجاميع الكربوكسيل — خامسا :  
عمليات الفسفرة — الظروف التي تؤثر على تكوين الأنزيمات  
بالخلايا البكتيرية — التركيب الكيماوي للبيئة — العوامل الفيزيو  
كيماوية — درجة pH البيئية — طرق تعادلية — طريقة  
وقائية — درجة حرارة النمو — عمر المزرعة — المراجع ...

### الفصل الثاني

تفاعلات إزالة الأيدروجين والتنفس ..... ٣٩٣

التنفس كوسيلة للوصول إلى الأكسجين الغازي — طريق  
الأكسدة المباشرة — طريق النيتوكروم غير المباشر — وظائف  
الطرق التنفسية — تأثير باستير — الفسفرة التأكسدية — التمثيل



الصفحة

البنائي التأكسدي - مستقبلات الأيدروجين الأخرى غير  
الأكسجين الغازي - الكائنات التي تستعمل الأكسجين المرتبط  
فقط - الكائنات التي تستعمل كل من الأكسجين الغازي  
والأكسجين المرتبط - البكتيريا غير الهوائية اجبارا - المراجع

### الفصل الثالث

التحولات الأيضية للكربوايدرات ... .. ٤١٧  
إنطلاق الطاقة - تفاعلات حمض البيروفيك - تفاعلات حمض  
الأسيتواسيتيك - تفاعلات حمض الستريك - العمليات البتائية  
للكربوايدرات - تكوين عديدات السكر - تكوين الصمغ  
أو المواد اللزجة - السليولوز البكتيري - تخزين الكربوايدرات  
بالخلايا البكتيرية - المراجع ... ..

### الفصل الرابع

التحولات الأيضية للمواد النيتروجية ... .. ٤٥٣  
هدم البروتينات - دورة النيتروجين - تثبيت النيتروجين -  
التحولات التي تم بين النيتروجين البكتيري والأمونيا - التأزت  
إختزال الآزوتات إلى أمونيا عملية عكس التأزت - تحول  
الأمونيا إلى مجاميع أمينية - طريق الفبوماترات - طريق  
الكيتوجلوتارات - التفاعلات العامة للأحماض الأمينية -  
عمليات التحول الأمينية - تفاعلات إزالة ثاني أكسيد الكربون -  
تفاعلات فصل المجاميع الأمينية - تفاعلات خاصة بأحماض  
أمينية معينة - الأحماض الأمينية الحلقية - بناء البروتين - المراجع

### الفصل الخامس

التحولات الأيضية للمواد الأخرى ... .. ٤٩٣  
التحولات الأيضية للدهون - التحولات الأيضية للسترويدات

الصفحة

التحولات الأيضية للمركبات الحلقية العطرية — التحولات  
الأيضية للأحماض النووية والبيورينات والبريميدينات — المراجع ..  
الباب السادس

التعرف على البكتيريات وتقسيمها ... .. ٥١٥  
الفصل الأول

التعرف على البكتيريات ... .. ٥١٧  
التركيب الأنتيجيني — أنواع التفاعلات السيرولوجية — التفاعلات  
التي تتم بالسوائل تفاعلات الببتات الصلبة — الدراسات التي  
تتطلب طرقا سيرولوجية — تحضير الأمصال المضادة — إختيار  
الحيوان المناسب — جمع وتخزين وتجزيء الأمصال — تحضير  
الأنتيجين لأغراض الحقن — الأنتيجينات غير الذائبة —  
الأنتيجينات الذائبة — طرق الحقن ومواعيدها وكمية الأنتيجينات  
المحقونة — الاستنزاف الاختباري أو النهائي — الطرق الوصفية  
لأستعمال الأمصال المضادة — الاختبارات التبادلية — الاختبارات  
للماكروسكوبية — الطريقة الميكروسكوبية — اختبارات امتصاص  
المبادئ — اختبار الترسيب — اختبار تثبيت المواد المكملية —  
الطرق السيرولوجية الكمية — التفاعلات التي تتم في السوائل —  
التفاعلات التي تجري في الببتات الشبه صلبة — الاتجاه الجزئي  
والوراثي في التقسيم — تركيب الـ DNA — التهجين في  
الـ DNA — الاتجاه الوراثي في التقسيم — المراجع ... ..  
الفصل الثاني

تقسيم البكتيريا ... .. ٥٤٥  
تسمية البكتيريا — الأسماء العلمية — تقسيم البكتيريا — النوع —  
الجنس — العائلة — الرتبة — الصف — الجزء الأول : البكتيريا الممثلة  
للضوء — الجزء الثاني : البكتيريا الزاحفة — الجزء الثالث : البكتيريا



المغلقة-الجزء الرابع : البكتيريا المتبرعمة-الجزء الخامس : الأسبيروكيتات  
الجزء السادس : البكتيريا المنحنية والحلزونية - الجزء السابع :  
البكتيريا العصوية أو الكروية الهوائية والسالبة لصبغة جرام -  
الجزء الثامن : العصويات غير الهوائية إختيارا والسالبة لجرام -  
الجزء التاسع : البكتيريا غير الهوائية والسالبة لجرام - الجزء  
العاشر : بكتيريا كروية وعصوية كروية وسالبة لجرام-الجزء  
الحادى عشر : الكرويات غير الهوائية والسالبة لجرام - الجزء  
الثانى عشر : البكتيريا ذاتية التغذية إجبارا والممثلة كيمائيا  
والسالبة لصبغة جرام - الجزء الثالث عشر : البكتيريا التى تنتج  
الميثان - الجزء الرابع عشر : الكرويات الموجبة لجرام - الجزء  
الخامس عشر : العصويات والكرويات التى تكون جراثيم  
داخلية - الجزء السادس عشر : البكتيريات العصوية غير  
المتجرثمة والموجبة لجرام - الجزء السابع عشر : الأكتينوميستات  
والكائنات القريبة منها - الجزء الثامن عشر : الريكيتزيات -  
الجزء التاسع عشر : الميكوبلازومات - -المراجع

### الفصل الثالث

الفيروسات . ... .. ٦٣٥  
خصائص الفيروسات - تركيب الفيروسات - تكاثر الفيروسات  
طرق زرع الفيروسات - تطفر الفيروسات - طرق مقاومة  
الفيروسات - الفيروسات البكتيرية - أهمية الفيروسات البكتيرية  
فى الدراسات البكتريولوجية - المراجع ... ..





# الباب الأول

## الفصل الأول

### تمهيد

لقد كان لإختراع المجهر واستعماله في مشاهدة الأشياء الدقيقة أثر كبير في اكتشاف عالم جديد من الكائنات الدقيقة والتي كان يصعب رؤيتها من قبل .

وقد أيقن الإنسان فيما بعد أن هذه المخلوقات الدقيقة ذات قوة جبارة ومقدرة فائقة ، فهي قادرة على أن تجعل من الرجال الأقوياء الأصحاء مرضى وأن للبعض الآخر منها القدرة على تحويل المواد الصلبة إلى مخلفات ضعيفة ، كما أن منها أيضاً ما يمكنه تحويل الأطعمة الشهية إلى سموم ناقعة ، كما يتقن الإنسان أيضاً أن من هذه الكائنات ما يمكنها أن تقلل من إنتاج المحاصيل المختلفة نتيجة لإصابتها للنبات محدثة له أمراضاً مختلفة .

وما لبث الإنسان أيضاً أن تعرف على أن من الكائنات الحية الدقيقة هذه ما هو نافع له في نواحي حياته المتشعبة بالرغم من كثرة تعداد الكائنات النافعة للإنسان إلا أن أهميتها الإقتصادية لم تبين له إلا منذ قرن واحد مضى ، وفي خلال هذه الحقبة من الزمن سخر الإنسان هذه الكائنات في إنتاج كثير من المواد الكيماوية من العصارات النباتية المتخمرة ، كالكحول والخل والاسيتون كما إستغل هذه الكائنات أيضاً في إنتاج المضادات الحيوية التي تمكن عن طريقها علاج كثير من الأمراض الميكروبية التي كان يستعصى علاجها من قبل . كما إستطاع الإنسان أن يعرف الدور الهام في زيادة خصوبة الأراضي والذي تقوم به محتويات الأرض من الكائنات الحية الدقيقة ، فتبين له أنها تعمل على التخلص من البقايا العضوية نباتية كانت أو حيوانية

وتمنع تكديسها بالتربة ، وأنها تهدم أو تحلل المواد البروتينية والكربوايدراتية المعقدة محولة إياها إلى مواد أبسط تعقيداً يسهل على النباتات المنزرعة إستعمالها كمواد غذائية . كما تعرف الإنسان على الكائنات التي تسكن التربة ولها قدرة على إستغلال الآزوت الجوى وتحويله إلى الصور الصالحة لتغذية النباتات .

ولكى يأخذ القارئ فكرة عن أهمية الدور الذى لعبه علم الكائنات الحية الدقيقة خلال الخمسين سنة الماضية يكفى أن نبين أن زيادة متوسط عمر الإنسان فى هذه الفترة من الزمن إنما يرجع إلى نشاط علماء الميكروبيولوجيا فى التوصل إلى طرق مقاومة الميكروبات الضارة التى كانت تسبب خسائر فادحة فى الأموال والأنفس ، ومما هو جدير بالذكر أن كثرة الوفيات فى أوائل القرن الحالى كانت ترجع غالباً إلى تفشى الأمراض الوبائية التى تسببها البكتيريا والفيروسات والبروتوزوا ، فى حين أن أغلب ما يسبب الوفيات حالياً وبخاصة فى الدول المتحضرة يرجع إلى الأمراض العضوية كأعراض القلب والكلى والتورمات الخبيثة وإلى حوادث الطيران والسيارات .

### علم الكائنات الحية الدقيقة Microbiology

كلمة Microbiology مشتقة من كلمة *Micrus* اليونانية وتعنى دقيق و *bios* وتعنى الحياة و *Logos* وتعنى علم وعلى ذلك فالكلمة تعنى علم الكائنات الحية الدقيقة والذى يختص بدراسة الكائنات الحية الدقيقة والنشاط الذى تقوم به . وهذه الكائنات الصغيرة التى لا يمكن أن نشاهدها بالعين المجردة ، وعلى ذلك فالكائنات الحية الدقيقة تشمل الفطريات والخمائر والطحالب والبكتيريا والريكتيزيا والفيروسات والميكوبلازما والبروتوزوا .

ويلاحظ أن الكائنات الحية الدقيقة تشمل كائنات تشبه النباتات وكائنات تشبه الحيوانات وكائنات أخرى لها صفات مشتركة بين النباتات والحيوانات



وهذه لا يمكن إدراجها لا في المملكة الحيوانية ولا في المملكة النباتية ولذلك اقترح E.H. Haeckel عالم الحيوان الألماني في سنة ١٨٦٦ مملكة جديدة تسمى Kingdom Protista لتشمل الكائنات وحيدة الخلية التي وصفت في المملكة النباتية أو في المملكة الحيوانية مثل البكتيريا والطحالب والفطريات والبروتوزوا . وهي تشمل كائنات أهم ما يميزها أنها وحيدة الخلية وقد تكون متعددة النوى أو عديدة الخلايا دون ما تميز لأعضاء معينة Without differentiation ويلاحظ أنها تشمل كائنات ممثلة للضوء أو غير ممثلة للضوء وبعضها يشبه النباتات والبعض الآخر يشبه الحيوانات إلا أن منها ما لها صفات من النبات والحيوان معاً وقد أدى ذلك الأمر إلى تقسيم هذه الكائنات فيما عدا الفيروسات إلى مجموعتين كبيرتين وهما :

١ - الكائنات ذات النواة البدائية (البروكاريوتات) Procaryotes

٢ - الكائنات ذات النواة الحقيقية (الإيوكاريوتات) Eucaryotes

وفيما يلي بعض الصفات الأساسية التي تميز الكائنات ذات النواة البدائية عن الكائنات ذات النواة الحقيقية :-

١ - طبيعة الجهاز الحامل للصفات الوراثية Genophore في البروكاريوتات يتكون من الناحية المرفولوجية بما يعرف بالنوكليوبلازم nucleoplasm وهو يتكون من تركيب دائري مفرد من شريط مزدوج من الـ DNA لا ينفصل عن السيتوبلازم بأي غشاء أو جدار ويتكاثر أو يتكرر عن طريق إنفراج unwinding خيطي الحلزون المزدوج للـ DNA ويأخذ كل طرف منهما في تكوين خيط متكامل أمامه . وهذا التركيب المورفولوجي هو الجهاز الوراثي بالخلية والذي يتخذ في كثير من الأحيان شكل حلقة أو دائرة مغلقة ويعرف حينئذ بالكروموسوم الدائري Circular chromosome وتمثل محتوياته من الجينات وحدة عبورية مفردة . أما في حالة خلايا الإيوكاريوتات فتمتلك

نواة يحيط بها غشاء نووى وأن هذه النواة تتكاثر أو تتكرر عن طريق الإنقسام غير المباشر mitosis .

فرق آخر هو غياب البروتين القاعدي الهيستون histones من DNA في خلايا الكائنات ذات النواة البدائية ووجوده يعتبر جزء متمم لتركيب الكروموسوم في خلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية .

٢ - غياب الأغشية المحددة للترايب السيتوبلازمية في الكائنات ذات النواة البدائية حيث أن هذه الأغشية إن وجدت تكون إمتدادات من الغشاء السيتوبلازمى للخلية .

ويلاحظ أن صبغات التمثيل الضوئى توجد في الخلية النباتية داخل تركيب يحاط بغشاء واضح هي البلاستيدات الخضراء في حين أن الخلايا ذات النواة البدائية إن وجدت بها صبغات للتمثيل الضوئى فإنها إما أن توجد بداخل حويصلات vesicles محاطة بامتدادات للغشاء السيتوبلازمى أو في أكياس غشائية رقيقة جداً تحاط أيضاً بامتداد للغشاء السيتوبلازمى . أما الحويصلات التى تشاهد في البكتيريا *Chlorobium* الممثلة للضوء فتعتبر تركيبات فريدة من نوعها لإحتوائها على الكلوروفيل والكاروتينويدات carotinoides والبكتيريا الخضراء تتميز بعدم وجود غشاء يحيط بالحويصلات بها بل تحدد من الخارج بطبقة من جزيئات الكلوروفيل ، وهذه لا توجد في الإيوكاريوتات .

كذلك فإن إنزيمات التنفس لخلايا الكائنات ذات النواة البدائية توجد في الغشاء السيتوبلازمى في حين أن مثل هذه الإنزيمات توجد في خلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية في أجسام غشائية متخصصة داخل الخلية تسمى الميتوكوندريا .

لا تكون خلايا الكائنات ذات النواة البدائية فجوات تخزينية storage vacuoles وبذلك فإن المواد المخزنة مثل الجليكوجين توجد حرة في السيتوبلازم .



٣ — الريبوسومات في الكائنات ذات الأنوية البدائية صغيرة الحجم لها ثابت ترسيب  $S^* 70$  sedimentation constant في حين أنها في الكائنات ذات النواة الحقيقية أكبر حجماً وذات ثابت للترسيب  $S 80$  . والريبوسومات في الحالة الأولى موزعة في السيتوبلازم وليست منتظمة على الشبكة الإندوبلازمية Endoplasmic reticulum كما هو الحال في الكائنات ذات النواة الحقيقية .

٤ — الجدار الخلوي في الكائنات ذات النواة البدائية يتميز بوجود مادة فريدة في تركيبها الكيماوي وهي عبارة عن الميورين murein (الميوكوبيتيد mucopeptides ) وهذا المركب لا يوجد إطلاقاً في جدار الخلايا ذات النواة الحقيقية .

٥ — الأسواط flagella التي تحملها الكائنات البروكاريوتية تختلف عن الأهداب cilia التي تحملها الخلايا الإيوكاريوتية من حيث صفاتها المورفولوجية والكيماوية .

٦ — الفقائيع الغازية تعتبر من أهم مميزات الطحالب الخضراء المزرقمة وتوجد أيضاً في بعض أجناس البكتيريا .

٧ — الخلايا ذات النواة البدائية عاجزة عن تخليق المركبات الاستيرولية

والجدول ١ ، يبين ملخصاً للفروق بين خلايا الكائنات ذات النواة البدائية (البروكاريوتات) وخلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية (الايوكارتات)

---

$S^* =$  وحدة سفد بارچ Svedberg unit (حجم الريبوسومات تدل عليه السرعة التي ترسب عليها خلال الطرد المركزي ultracentrifuge ( قيم  $S$  ) وكلما كانت قيم  $S$  كبيرة كان الجزيء أثقل وأكبر حجماً) .

جدول ١ : الفروق التركيبية والوظيفية بين خلايا الكائنات ذات النواة البدائية والخلايا ذات النواة الحقيقية .

خلايا الكائنات ذات النواة الحقيقية Eucaryotic	خلايا الكائنات ذات النواة البدائية Procaryotic	الصفة
٣ أو أكثر	١	عدد الكروموسومات لكل منطقة نووية
+	-	تكرار الكروموسوم بالإنقسام غير المباشر
+	-	والغشاء حول المنطقة النووية
+	-	مصاحبة المستونات للكروموسومات
+	إذا وجدت تكون امتدادات من الغشاء السيتوبلازمي	الأغشية المحددة التركيب السيتوبلازمية
+	-	جود الميتوكوندريا
+	-	وجود البلاستيدات الخضراء
+	-	وجود الفجوات التخزينية
S 80	S 70	حجم الريبوسومات
-	±	احتوائها على الأحماض الأمينية من النوع D
-	±	إحتوائها على حمض الداي أمينو بيميلك *
-	±	إحتوائها على حمض الميوراميك *
+	-	وجود الشبكة الأندوبلازمية
+	-	وجود جهاز جولجي Golgi
+	-	وجود الليزوزومات Lysosomes
+	-	في الحيوانات
±	-	في النباتات

• دليلا على وجود الميوكوبتيد

مما تقدم يتضح أن الكائنات ذات النواة البدائية أو البروكاريوتات Prokaryotes جديرة بأن توضع في وحدة تقسيمية على أعلى مستوى ألا وهي المملكة واقترح لها اسم مملكة الميكروبات Kingdom of microbes إلا أنه في الطبعة الثامنة لمرجع بيرجي Bergey's Manual of Determinative Prokaryotae Bacteriology (١٩٧٤) اقترح لهذه المملكة ما يأتي : —

Kingdom Prokaryotae

Division I Phototrophic prokaryotes (Photobacteria)

Class I : Blue-green photobacteria

Class II : Red photobacteria

Class III : Green photobacteria

Division II : Prokaryotes indifferent to light (Scotobacteria)

Class I The bacteria

Class II : Obligate intracellular scotobacteria in eucaryotic cells — Rickettsias

Class III : Scotobacteria without cell walls — Mollicutes

ويقسم علم الكائنات الحية الدقيقة طبقاً لطبيعة الكائنات موضوع الدراسة إلى ما يأتي

١ — علم البكتيريا Bacteriology ، وهو العلم الذي يختص بدراسة البكتيريا .

٢ — علم الفطريات Mycology ، وهو العلم الذي يختص بدراسة الفطريات والخمائر .

٣ — علم الطحالب Phycology ، وهو العلم الذي يختص بدراسة الطحالب .

٤ — علم الفيروسات Virology ، وهو العلم الذي يختص بدراسة الفيروسات .



٥ — علم البروتوزوا Protozoology ، وهو العلم الذى يختص بدراسة البروتوزوا ومنه فرع يختص بدراسة البروتوزوا التى تسبب الأمراض ويسمى Parasitology .

٦ — وهناك علم جديد يتخصص فى دراسة الكائنات الدقيقة التى تصنف تحت الميكوبلازومات والريكزيات او الكائنات الشبيهة بها . ويمكن تقسيم علم الميكروبات أيضا تبعاً لتطبيقاته المختلفة إلى ما يأتى :—

#### ١ — ميكروبيولوجى التربة : Soil Microbiology

وهو العلم الذى يختص بدراسة ميكروبات التربة على اختلاف نوعيتها وطبيعتها فهو يهتم بالكائنات الحية الدقيقة التى تزيد من خصوبة التربة عن طريق تحويل الأزوت الجوى إلى مركبات آزوتية (تثبيت الأزوت nitrogen fixation) تستعمل بواسطة النبات لبناء البروتين . وكذلك يهتم بالكائنات الحية الدقيقة أيضاً التى تعيش فى التربة وتحلل المركبات العضوية إلى مركبات غير عضوية وبذلك تجعلها فى صورة متاحة للنبات . أى تحول الأنسجة الحيوانية والأنسجة النباتية إلى مواد غير عضوية وبذلك تجعل التربة أكثر خصوبة عن طريق توفير المواد الغذائية الصالحة لتغذية النبات . وتعتبر هذه الخطوات عمليات معقدة تقوم بها كثير من الكائنات الحية الدقيقة . ولكى نأخذ فكرة عن مدى احتواء التربة الزراعية من الكائنات الحية الدقيقة فقد وجد أن مساحة ٤٠٠٠ متر مربع وهى ما تقرب من الفدان بعمق ٣٠ سم من التربة الخصبة يحتوى على ما يقرب من ١٠٠٠ رطل من البكتيريا وربما على نفس الكمية من الفطريات والبروتوزوا . وعموماً فيمكن القول بأنه كلما زادت الكائنات الحية الدقيقة فى التربة كلما زادت خصوبتها وإنتاجيتها .

#### ٢ — ميكروبيولوجى الألبان : Dairy Microbiology

يهتم هذا العلم بالكائنات الحية الدقيقة التى لها علاقة بمنتجات الألبان مثل

الجبين واللبن الزبادى وغيرها والكائنات الحية الدقيقة لها دور حيوى كبير فى تغذية الحيوانات المخمرة كالبقر والجاموس والغنم والماعز والتي تتميز بوجود معدة متعددة الغرف الغرفة الأولى منها وهى الكرش rumen تستعمل فى تخزين الغذاء وتنمو بها عديد من الكائنات الحية الدقيقة . وهذه الكائنات الحية الدقيقة تحلل السيليلوز بداخل الكرش وتبنى البروتين والفيتامينات والدهون بداخل خلاياها وهذه الخلايا الميكروبية عند موتها يستعملها الحيوان كمصدر للبروتين وغيره من مصادر الغذاء . وبذلك تتحول المواد السليولوزية الصعبة التحلل وذات القيمة الغذائية المنخفضة إلى لحم أو لبن داخل جسم الحيوان المختر .

### ٣ - الميكروبيولوجيا الصناعية : Industrial Microbiology

الأدوية والمواد الغذائية والكحول والانزيمات والأحماض العضوية كل ذلك أمثلة لبعض المواد التى تنتج على نطاق تجارى بالاستعانة بالكائنات الحية الدقيقة . ويتم إنتاج مثل هذه المواد باستعمال بيئات رخيصة نسبياً وتنمى عليها البكتيريا أو الخمائر أو الفطريات أو الطحالب .. الخ .

### ٤ - التنقية الميكروبية للفضلات : Microbiological Purification of wastes

يمكن أن تستعمل الكائنات الحية الدقيقة لتنقية الفضلات الإنسانية وذلك بتنميتها فى وحدات تصرف اقدار البالوعات حيث تحلل وتؤكسد المواد العضوية كما تحطم الكائنات الممرضة ويمكن إستعمالها أيضاً فى تحليل المنظفات الصناعية detergents التى تستعمل فى عمليات التنظيف فى المصانع وغيرها . والفضلات الضارة المتخلفة عن المنازل وعن الصناعة والتى تقذف فى البحار أو المصارف يمكن تحويلها بواسطة الكائنات الحية الدقيقة إلى مواد لا تضر بالأسماك وغيرها من الكائنات المائية إلاثلاً المركبات الفينولية الناتجة عن تكرير البترول يمكن تحليلها بواسطة أنواع معينة من البكتيريا . والوقود الذى يحتوى على كبريت ينتج عن إحتراقه أكاسيد ضارة تسبب تلوث الجو

الآن وجود البكتيريا *Thiobacillus ferrooxidans* تختزل هذه الأكاسيد قبل تلويثها للجو .

#### ٥ — مقاومة الحشرات : Control of Insects

الحشرات التي تلتهم المحاصيل أو التي تحمل كائنات ممرضة للإنسان أو الحيوان أو النبات يمكن أن تكون عرضة للأمراض ولحسن الحظ فإن الكائنات الدقيقة الممرضة للحشرات لا تضر النبات أو الحيوان ، كما أن البكتيريا والفيروسات التي تسبب أو بثة بين الحشرات الضارة لا تضر الحشرات النافعة مثل نحل العسل .

ويوجد اتجاه مماثل وهو استعمال الكائنات الحية الدقيقة في مجال مقاومة الأمراض النباتية .

#### ٦ — ميكروبيولوجى المياه أو البحار : Aquatic ( or Marine) Microbiology

الكائنات الحية الدقيقة موجودة في البحار وفي المياه العذبة وهذه الكائنات الحية الدقيقة تمثل جزء حيوى هام حيث أنها توفر العناصر الغذائية اللازمة للحياة البحرية . كما يشمل هذا العلم تحليل مصادر مياه الشرب قبل وبعد إعدادها حتى نضمن خلوها من الأحياء الدقيقة الممرضة .

#### ٧ — ميكروبيولوجى الفضاء : Space Microbiology

ويطلق عليه في بعض الأحيان Exobiology وهو العلم الذى يبحث في إمكانية وجود الكائنات الحية الدقيقة في الفضاء الخارجى وعلى الكواكب وكيفية تأقلم الأنواع الأرضية على هذه الكواكب إذا ما تلوثت الأخيرة عن طريق مركبات الفضاء . وكذلك يستغل هذا العلم بعض الكائنات الحية الدقيقة لاستعمالها كمصدر لغذاء الإنسان وللحصول على الطاقة وكذلك للحصول على التوازن المرغوب بين الأوكسجين وثنائى أكسيد الكربون بداخل مركبات الفضاء .



## ٨ — الحرب الحيوية : Biological Warfare (BW)

يقصد بهذا النوع من الحروب إستعمال الكائنات الحية أو نواتجها السامة لإحداث موت أو تخطيم للإنسان وكذلك حيواناته النافعة ونباتاته الإقتصادية. وهذه التسمية أوسع مما هو معروف بالحرب البكتريولوجية أو الجرثومية Bacteriological or germ warfare حيث أنها تشمل إستعمال كل أنواع الكائنات الحية الدقيقة وكذلك الأشكال الأرقى من الحياة مثل الحشرات وغيرها من الآفات. والبحوث في هذا الاتجاه تعتبر بحثاً مدمرة للحياة إلا أن الطرق الدراسية والمعلومات التي قد تتكشف عنها للوقاية ضد الحرب الحيوية ستزيد من قدراتنا على مقاومة الأمراض المستعصية في الحياة الطبيعية عندما تتوقف الحروب .

### توزيع الأحياء الدقيقة في الطبيعة:

توجد الأحياء الدقيقة في الطبيعة في كل مكان تقريباً فهي تحمل بواسطة تيارات الهواء وفي التربة وفي مياه المحيطات ما قرب من سطحها وما بعد في أغوارها ومياه الترعرع والأنهار والبرك والمستنقعات وفي الإفرازات الحيوانية وعلى جلود الحيوانات وبالأمعاء وفي دم الحيوانات في الحالات المرضية حيث أن دم الحيوانات السليمة خالياً تماماً من الكائنات الحية الدقيقة .

والكائنات الحية الدقيقة توجد أينما وجد الغذاء وتوفرت الرطوبة والحرارة الملائمة لنموها وتكاثرها وكلما بعدت عن ما يوقف أو يمنع نموها من عوامل فيزيائية أو كيميائية أو حيوية .

ومن المعروف أن الظروف الملائمة لحياة الإنسان تعتبر ملائمة لحياة هذه الأحياء الدقيقة . فنحن نعيش وسط عالم كبير من الأحياء الدقيقة فهي في الهواء الذي نستنشق وفي الغذاء الذي نأكله ، وعلى سطوح أجسامنا وداخل

أمعائنا . ومن حسن الحظ أن الغالبية العظمى من الأحياء الدقيقة ليست ممرضة وأن لجسم الإنسان في حالته الطبيعية القدرة على وقاية نفسه من أضرار هذه الكائنات .

والأحياء الدقيقة منها ما هو متطفل إجبارا Obligate parasites أى يعيش فى أو على الخلايا الحية فقط ومنها ما هو متطفل إختيارا Facultative Parasites حيث يمكنه أن يعيش فى أو على الخلايا الحية بعض الوقت وعلى البقايا الحيوانية والنباتية فى البعض الآخر من الوقت كما أن منها كائنات غير متطفلة إطلاقا تعرف بالكائنات المترمة Saprophytes وهذه تعيش طول الوقت على بقايا النباتات والحيوانات ومخلفاتها .

## المراجع

- Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eight Edition.. The Williams and Wilkins Company - Baltimore. 1268 p.
- Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 1035 p.
- Levy, J., J. J. R. Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and Sons Inc. New York. 684 p.
- Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. McCarthy. 1978. Microbiology. Second Edition. Holt, Rinehart and Winston. New York. 769 p.
- Pelczar, M.J. and R.D. Reid. 1965. Microbiology. Second Edition. McGraw-Hill Book Company, New York York. 662 p.
- Stanier, R Y., M. Doudoroff, and E.A. Adelberg. 1972. General Microbiology. The Macmillan Press LTD, London 873 p.

## الفصل الثانى

### نبذة تاريخية

لقد ساعد فى تطور علم الأحياء الدقيقة بصفة عامة وعلم البكتيريا بصفة خاصة عدد من العلماء تمكنوا من إقناع العالم بأهمية الكائنات الحية الدقيقة وبالدور الذى تلعبه فى رفاهية البشرية أو فى نكباتها . كما إستحدث هؤلاء العلماء الطرق المختلفة لدراسة هذه الكائنات مما أدى إلى زيادة التعرف عليها وإلى نمو هذا العلم وتقدمه خلال فترة وجيزة من الزمن . وسوف نرى أن تاريخ علم الكائنات الحية الدقيقة شأنه شأن سائر العلوم الأخرى ملئ بالإنكتشافات الهامة . وعموما فإن الإنسان قد إنتصر فى كثير من المعارك التى قامت بينه وبين الميكروبات فى ميدان البحوث والتى أسفرت عن إمكانية تسخير هذه الكائنات لصالح البشرية .

وقد سبق القول أن علم الكائنات الحية الدقيقة لم يكن له وجود قبل إكتشاف العدسات المكبرة . فى خلال القرن الثالث عشر إقترح روجر باكون Roger Bacon أن الأمراض التى تصيب الإنسان هى نتيجة للإصابة بكائنات حية غير مرئية . وقد أيد هذا الاقتراح كل من فراكستورو Fracastoro ( ١٤٨٣ - ١٥٥٣ ) ، ثم فون بلينزس Von Plenciz ( ١٧٦٢ ) ولكن كل هذه المقترحات كانت عبارة عن ملاحظات تفتقر إلى الدليل المادى المقنع لعلماء ذلك العصر .

وفى عام ١٦٥٨ أشار كير كر Kircher وهو أحد رجال الدين إلى أن ديدانا صغيرة غير مرئية تتواجد فى الأجسام المتعفنة وفى اللحوم المحفوظة واللبن والإفرازات المخاطية المصاحبة للبراز فى حالات الإسهال . وبالرغم من أن بحوثه كان ينقصها الدقة اللازمة غير أنه يعتبر أول من تعرف على أهمية البكتيريا فى تحليل المواد العضوية وفى إحداث المرض .

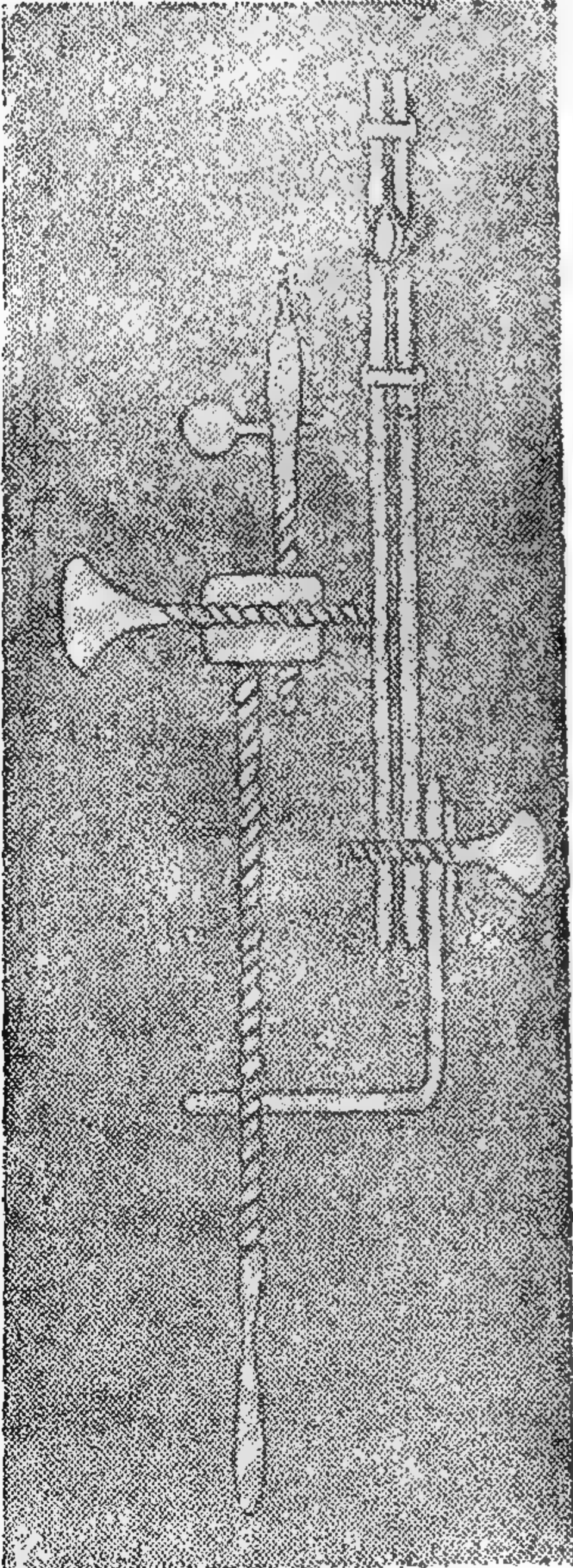
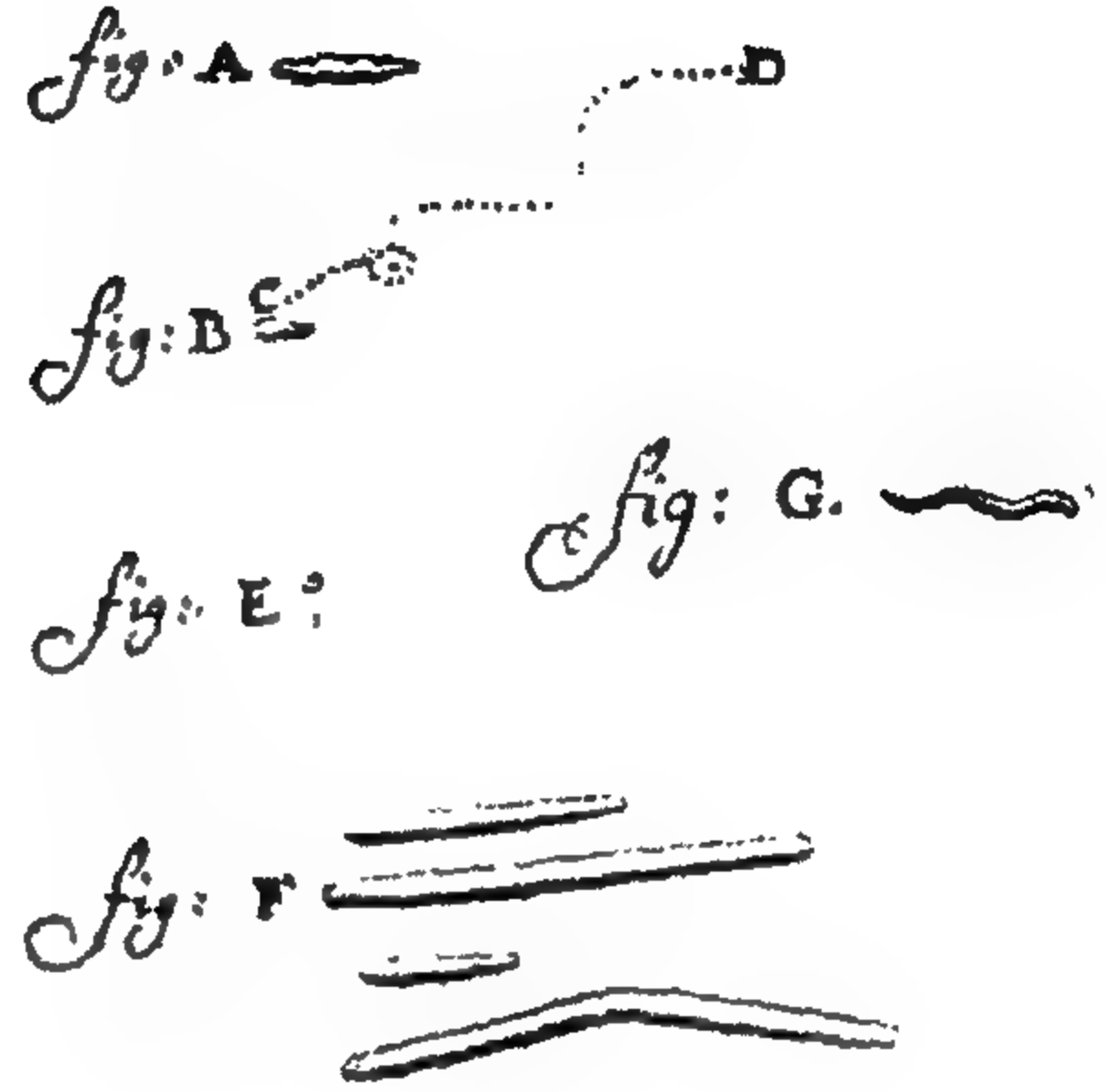


وفي الواقع أن عالم الكائنات الحية الدقيقة لم يظهر للإنسان حتى أكتشف الميكروسكوب وذلك عندما تعلم الإنسان صناعة العدسات من قطع الزجاج وتجميعها لتساعد في تكبير الأشياء الدقيقة والتي لا تشاهد بعين الإنسان المجردة، وقد إكتشفت الميكروسكوبات في بداية القرن السابع عشر ففتح ذلك المجال لدراسة الكائنات الحية الدقيقة . ويعتبر أنتوني فان ليفنهوك Antony van Leeuwenboek الذي عاش في Delft بهولندا من ١٦٣٢ - ١٧٢٣ أول من قام بوصف ورسم هذه الكائنات بكثير من الدقة وأطلق عليها الحيوانات الصغيرة animalcules (شكل ١) وقد مكّنه من هذا سعة ثرائه ومركزه الإجتماعي المميز وشغفه بصناعة العدسات والميكروسكوبات . وفي خلال فترة حياته قام بصناعة ما يقرب من ٢٥٠ ميكروسكوب (شكل ٢) وكان أقصى تكبير حصل عليه ٢٠٠ - ٣٠٠ مرة . وما قام به ليفنهوك من وصف دقيق للكائنات الحية الدقيقة التي لاحظها وشاهدها في قطرات المياه أو في قطرات الخل أو في غيرها من المواد التي فحصها بميكروسكوباته لدليل قاطع على أن ما شاهده كان من البكتيريا والفطريات والبروتوزوا . وقد أرسل رسوما لما شاهده مشفوعة بوصف تفصيلي لكل مجموعة من المجاميع الميكروبية التي شاهدها إلى الجمعية الملكية بلندن Royal Society of London وهي الهيئة العلمية الأولى التي كانت تعمل في ذلك الوقت على تقديم البحوث وتبادلها بين العلماء وقد قرئت خطاباتاه بإهتمام بالغ ولكن أحدا لم يتعرف على مدى أهميتها، فالدراسات في ذلك الوقت كانت تجري لإشباع رغبة حب الإستطلاع لدى الباحثين دون التعرض لأهميتها الإقتصادية .

#### التوالد الذاتي : Spontaneous generation

بعد أن أظهر ليفنهوك أن هذه المخلوقات الميكروسكوبية موجودة في الطبيعة بدأ العلماء في البحث عن أصل ومنشأ هذه الكائنات ومنذ البداية كانت هناك مدرستان فكريتان فقد إعتقد أعضاء المدرسة الأولى أن هذه الحيوانات الصغيرة تتكون

شكل ١ : أشكال البكتيريا  
التي رسمها ليفينهوك  
( عن Burrows 1973 )



شكل ٢ : نموذج لأحد المكروسكوبات التي  
صنعها ليفينهوك السهم يشير إلى العدسة .  
الجسم المفحوص يوضع على قمة السن  
المدبب أمام العدسة  
( عن Levey et al. 1973 )

تلقائيا أو ذاتيا من مواد غير حية وهو ما يعرف بنظرية التوالد الذاتي أو التلقائي Spontaneous generation or abiogenesis في حين المدرسة الثانية ومنها لفينهوك كانت تعتقد بأنها تنشأ من بذور seeds أو germs تكونها هذه الحيوانات الصغيرة والتي تكون دائما موجودة في الهواء .

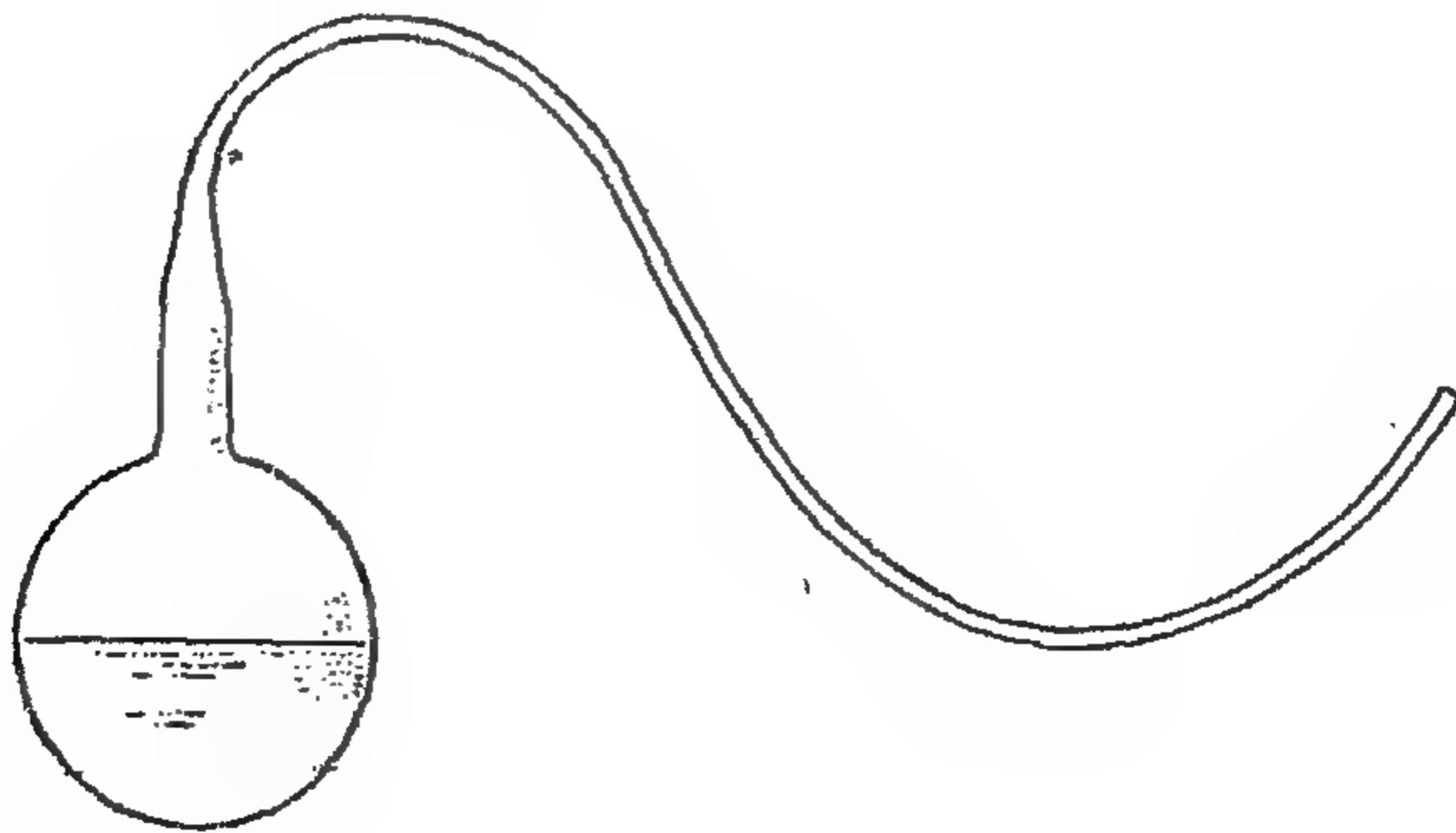
ومن مؤيدي المدرسة الأولى جون نيد هام John Needham الذي قرر عام ١٧٤٥ أن مرق اللحم المغلي والموجود بالدوارق التي سدت فوهتها بالفلين حدث بها تعفن وأن هذا المرق الفاسد احتوى على أحياء دقيقة ظهرت عند الفحص الميكروسكوبي وأن هذه الأحياء الدقيقة لم تكن موجودة في بداية التجربة . وإستنتج أن هذه الكائنات الحية الدقيقة قد نشأت ذاتيا أو تلقائيا من المرق نفسه حيث إنه إعتقد أن الحرارة المرتفعة الغليان قد قتلت جميع الكائنات الحية التي كانت موجودة .

ومن مؤيدي المدرسة الثانية والذي قدم دليلا قويا على أن الكائنات الحية الدقيقة لا تنشأ تلقائيا أو ذاتيا هو العالم الإيطالي لازارو سبلانزاني Lazzaro Spallanzani فقد أجرى عديد من التجارب على هذه المشكلة في منتصف القرن الثامن عشر (١٧٦٥ و ١٧٧٦) فأظهر أن التسخين يمنع ظهور هذه الحيوانات الصغيرة في مستخلصات المواد الغذائية مثل المرق وأوضح أن هذه الحيوانات الصغيرة يمكن أن تحمل إلى المرق بالهواء . كما أنه لم يكن مقتنعا بما يقوم به البحات من قفل الدوارق بالفلين . ولاحظ أن المرق يظل خال من الكائنات الحية الدقيقة لمدة طويلة وذلك بإطالة فترة الغليان ثم لحام عنق الدورق وبذلك فإن هذه الحيوانات الصغيرة لن تظهر إلا إذا دخل الهواء مرة أخرى وأصبح ملامس للمرق . إلا أن علماء عصره ومنهم نيد هام Needham أصر على أن وجود الهواء أمر هام لنشأة الكائنات الدقيقة من المرق نفسه ولم يكن ذلك الهواء متاحا عقب لحام الدورق .

ثم ظهر بعد ذلك أن الكائنات الحية الدقيقة لن تظهر في المرق عندما



يجرى التسخين المناسب حتى ولو عرض بعد ذلك للهواء على أن يعامل الهواء قبل ملامسته للمرق لإزالة الجراثيم الموجودة في الهواء . ففي عام ١٨٣٦ قام فرانزشولز Franz Schulze بتمرير الهواء خلال المرق المغلي وذلك بعد تمريره خلال محاليل من بوتاسيا كاوية وحامض كبريتيك، وفي عام ١٨٣٧ قام تيودور شوان Theodor Schwann بتمرير الهواء خلال المرق المغلي بعد تمريره خلال أنابيب ملتوية ومسخنة لدرجة حرارة عالية، ولم تظهر أى كائنات حية دقيقة بالمرق بالرغم من وجود الهواء . لكن المعارضون قالوا أن تمرير الهواء في الحامض أو خلال أنبوبة مسخنة يفسد الهواء بدرجة تجعله لا يصلح لنشأة الكائنات الحية الدقيقة ذاتيا من المرق . وفي عام ١٨٥٤ قام شرويدر Schroeder و فون دوش Von Dusch بتمرير الهواء خلال أنبوبة طويلة محتوية على قطن بدلا من تسخين الهواء أو إمراره في الأحماض قبل دخوله إلى المرق المغلي حيث أن القطن يعمل على ترشيح الهواء بحجز محتوياته من الأحياء الدقيقة . ورغم ذلك ظلت نظرية التوالد الذاتي أو التلقائي قائمة وذلك لإعتقاد معتنقيها أن كل الطرق المستعملة في معاملة الهواء قبل تمريره في المرق تسلبه القوة الحيوية لنشأة الأحياء الدقيقة من المرق نفسه، إلى أن قام العالم لويس باستير Louis Pasteur (١٨٢٢ - ١٨٩٥) بتجربة في عام ١٨٦٤ والتي قضت نهائيا على نظرية التوالد الذاتي . ففي هذه التجربة قام باستير بسحب أعناق دوارق تحتوى على مرق مغلي بشكل أنابيب



شكل ٣ : الدورق ذو العنق الطويل الضيق لإثبات خطأ فكرة التوالد الذاتي والذي قام باستير بتصميمه  
(عن Nester et al. 1978)

طويلة وضيقة تشبه عنق الأوزة (شكل ٣) ، وبذلك كان الهواء يمر خلال العنق دون أى معاملة. ولكن نظرا لطول وضيق والتواء عنق الدورق فإن محتويات الهواء من الكائنات الحية الدقيقة كانت تترسب على السطح الداخلى للعنق أثناء مروره ولا تصل إلى المرق، وبذلك لم تظهر به أى كائنات حية دقيقة. وقضت هذه التجربة البسيطة نهائيا عن تأثير الهواء نفسه كعامل منشط لتكشف الحياة من المواد العضوية مثل المرق وأن الكائنات الحية الدقيقة مثل غيرها من الكائنات الأخرى تنشأ فقط من آباء حية تشبهها تماما .

#### التخمير : Fermentation

لقد بدأ باستير عمله كأستاذ فى علم الكيمياء فى جامعة ليل Lille فى فرنسا وقام بدراسة التخمرات منذ ١٨٥٧ حتى ١٨٧٦ وذلك لشهرة فرنسا فى صناعة النبيذ والبيرة التى لها أهمية رئيسية فى صادرات فرنسا إلا أن هذه الصناعة كانت تعاني مشاكل عدم الإستقرار وسرعة الفساد فأوكلت الحكومة الفرنسية دراسة هذه المشكلة إلى باستير فأظهر أن المشكلة تتسبب نتيجة إستبدال لجزء من التخمر الكحولى بنوع آخر من عمليات التخمر والتى تتسبب عن تحويل السكر إلى حمض لاكتيك. وعندما قام بالفحص الميكروسكوبى لمحتويات أحواض التخمر والتى حدث بها تخمر لاكتيكى وجد أن خلايا الخميرة التى تحدث التخمر الكحولى قد حل محلها خلايا عضوية صغيرة وكروية صغيرة. أما فى أحواض التخمر السليمة فكان يوجد طراز واحد من الكائنات الحية الدقيقة (الخميرة) . وعلى ذلك فإنه قرر أنه بإنتخاب الميكروب المناسب فإنه يمكن التأكد من إنتاج ثابت مماثل . ولكن نظرا لأن كثيرا من الكائنات الحية الدقيقة تكون موجودة فى عصير الفاكهة والحبوب فيجب أولا إزالتها قبل أن يبدأ التخمر عند إضافة مزرعة من الخميرة الى حوض تخمير يكون سليم ومناسب . وقد إقترح باستير بأنه يمكن إزالة الميكروبات غير المرغوب فيها بالتسخين لدرجة لا تضر نكهة وطعم عصير الفاكهة فوجد أن تسخين العصير إلى درجة ١٤٥ ف ( ٦٢,٧ م ) لمدة

نصف ساعة تؤدي ذلك الغرض . وأطلق على هذه العملية في التخمرات الصناعية إسم البسترة Pasteurization وهي تتبع أيضا في صناعة الألبان لتخليص اللبن من الكائنات الممرضة والتي قد تصاحب اللبن .

### النظرية الميكروبية

بعد نجاح باستير في حل مشكلة التخمرات طلبت منه الحكومة الفرنسية دراسة مرض يصيب ديدان الحرير يسمى مرض Pebrine . وبعد سنوات عديدة من الدراسة ومن مجابهة الصعوبات والفشل حدد الطفيل الذي يصيب ديدان الحرير . كما أوضح باستير إنه يمكن التغلب على المرض بإستعمال ديدان سليمة خالية من المرض عند بداية التربية. ثم بدأ بعد ذلك دراسة مرض الجمرة الخبيثة Anthrax الذي يصيب الماشية والأغنام وأحيانا الإنسان وقام بتنمية الميكروب في دوارق بعد عزله من دم حيوانات ماتت بسبب المرض . إلا أن إكتشاف البكتيريا المسببة لهذا المرض وعزلها في مزرعة نقية تم على يد الطبيب الألماني روبرت كوخ Robert Koch (١٨٤٣-١٩١٠) ، الذي قام بدور هام في دراسة هذا العلم الجديد أعنى علم البكتيريا Bacteriology . ولما لم يكن لكوخ معمل فكان يجري تجاربه في منزله مستعملا أدوات بدائية وحيوانات تجارب صغيرة . وأظهر أن الفئران يمكن أن تعدى بلقاح من دم حيوانات مريضة بمرض الجمرة الخبيثة وأمكنه نقل المرض خلال سلسلة من ٢٠ فأرا عن طريق التلقيح المتوالى ولاحظ نفس الأعراض المميزة في كل مرة . ثم حاول زراعة البكتيريا المستولة ، وذلك عن طريق خلط قطعة صغيرة من طحال حيوان مصاب بقطرات صغيرة من مصل معقم Sterile serum . وباختبار هذا المصل ميكروسكوبيا كل ساعة شاهد نمو الكائن البكتيري في هذه البيئة على صورة عصويات متصلة في خيوط طويلة ثم ظهر بها بعد مدة أجسام لامعة بيضية الشكل اتضح له فيما بعد بأنها جراثيم Spores وهذه لم تلاحظ من قبل .



وعندما نقل جزء من بيئة بها الجراثيم المذكورة الى نقطة من بيئة محقمة وجد أن الجراثيم تنبت وتعطى خلايا عصبية مرة أخرى. وقام كوخ بوضع فروضه لاثبات أن البكتيريا يمكن أن تسبب مرض للحيوان وذلك في عام ١٨٧٦ . هذه السلسلة من الفروض كانت في الواقع تطبيق للشروط التي اقترحها Henle قبل ذلك بمدة ٣٦ سنة أى في عام ١٨٤٠ عن الخطوات المنطقية لاثبات العلاقة بين أى كائن دقيق وبين مرض ما وتتأخذ في الآتي :

١ — يجب أن يكون الكائن الحى الدقيق دائما مصاحبا In association في كل حالة للمرض المعين أو لعرض مرضى Symptom معين .

٢ — يجب أن يعزل الكائن الحى الدقيق من العائل المريض وينمى في مزرعة نقية Isolation in pure culture .

٣ — أن هذا المرض المعين يجب أن ينتج مرة أخرى عندما تلقح Incoculate العائل السليم القابل للاصابة بمزرعة نقية من الكائن .

٤ — يجب إعادة عزل نفس الكائن الحى الدقيق مرة أخرى من العائل المعدى تجريبيا .

وحيث أن كوخ كان أول من طبق هذه الفروض تجريبيا لذلك فإنها تعرف باسم فروض كوخ Koch's postulates .

### عزل البكتيريا في مزارع نقية

المزرعة النقية pure culture هي التي تشتمل على نوع واحد من الكائنات الحية الدقيقة ويفضل البعض اصطلاح Axenic culture عن اصطلاح Pure culture حيث أن المقصود بـ Axenic culture أنها المزرعة التي ينمو فيها نوع وحيد Single species من كائن حى دقيق في بيئة خالية من أى كائنات حية أخرى بصرف النظر عن النقاء

الوراثى للنوع . فى حين أن اصطلاح Pure culture يفترض النقاء  
الوراثى للمزرعة - أى أن بالمزرعة سلالة وحيدة معينة نقية وراثيا Single strain  
من نوع معين Single species .

أول من حصل على مزرعة نقية كان جوزيف ليستر Joseph Lister  
عام ١٨٧٨ وذلك عن طريق سلسلة من التخفيفات فى بيئة سائلة . فقام  
باستعمال حقنة خاصة استعمالها فى تخفيف لبن يحتوى على مخلوط من البكتيريا  
الى أن حصل على كائن مفرد فى وعاء به لبن معقم وبعد التحضين Incubation  
كانت البكتيريا فى هذا الوعاء من طراز مفرد وسمى ليستر الكائن المعزول بهذه الطريقة  
Bacterium lactis .

وفى نفس الوقت كان كوخ يحسن من طرق دراسة البكتيريا ، فقام  
باستعمال الجيلاتين وغيرها من المواد الصلبة الى البيئات السائلة لتصلبها  
وذلك للحصول على نموات منعزلة من الكائنات تعرف بالمستعمرات Colonies  
كل منها يحتوى على ملايين من البكتيريا لنوع بكتيرى مفرد .  
ومن هذه المستعمرات يمكن نقل مزارع نقية الى بيئات أخرى . ويعتبر  
اكتشاف بيئة الزرع الصلبة من أعظم اكتشافات كوخ .  
كما أنه أوجد طريقة البيئات الصلبة فى أطباق لتتقى المزارع البكتيرية وفى  
سنة ١٨٨٤ عزل كوخ ميكروب السل فى مزارع نقية عن هذا الطريق .  
ونظرا لعيوب الجيلاتين فقد أدخلت Frau Hesse (١٨٨٣) وهى زوجة  
لأحد طلاب كوخ استعمال الآجار عند عمل البيئات الصلبة والذي كان له  
مميزات أكثر من الجيلاتين عند استعماله فى هذا المجال . هذا وقد استمر كوخ  
فى تحسين طرق دراسة البكتيريا فكان أول من جهز الأغشية البكتيرية على  
الشرائح الزجاجية وقام بصبغها بأصبغ مختلفة توطئة للفحص الميكروسكوبى .

التحصين Immunization كوسيلة للوقاية من الامراض المعدية

واصل باستير اكتشافاته بخصوص الوقاية من الأمراض المعدية . ففى

عام ١٨٨٠ قام بعزل الميكروب المسئول عن كوليرا الدواجن Chicken cholera المتسبب عن *Pasteurella multocida* ونماه في مزرعة نقية وقام باستعماله في تلقيح دجاج سليم فأحدثت أعراض المرض ، ولكن عند استعماله لأحد المزارع النقية في تلقيح دجاج سليم لاحظ أن الدجاج لم يمرض . ومراجعة خطوات التجربة لاحظ باستير أن المزرعة التي استعملها في العدوى كانت مزرعة قديمة عمرها عدة أسابيع . وبعد عدة أسابيع أخرى قام بتكرار العدوى باستعمال مجموعتين من الدواجن ، مجموعة كانت ملقحة مسبقا بالمزارع القديمة التي ثبت أنها غير فعالة ، والمجموعة الأخرى سليمة لم يسبق تلقيحها . وكلا المجموعتين لقحتا بمزرعة حديثة من الميكروب ، وبعد فترة الحضانة الكافية لاحظ أن دجاج المجموعة الثانية مرض ومات ولكن أفراد المجموعة الأولى ظلت حية وسليمة . وقد حير ذلك الأمر باستير ، إلا أنه وجد فيما بعد التفسير المنطقي السليم فأمكنه التيقن من أن البكتيريا تفقد قدرتها على إحداث المرض — أى تفقد قدرتها المرضية Virulence إذا ماتت مزارعها في السن ، ولكن هذه البكتيريا المضعفة Attenuated bacteria مازالت قادرة على أن تدفع أو تنشط جسم العائل لينتج الأجسام المضادة المتخصصة Specific antibodies التي تقى الدجاج عندما يتعرض إلى البكتيريا الممرضة أو ذات القدرة المرضية Virulent . وهذا يمكنه أن يفسر أيضاً ما سبق أن لاحظته جينر Jenner قبل ذلك بمائة عام تقريباً (١٧٩٨) ، عندما قام باستعمال فيروس جدري البقر Cowpox في تحصين الإنسان ضد مرض الجدري Smallpox . وبالمثل قام باستير بعد ذلك بوقاية الأبقار من الإصابة بالجمرة الخبيثة وأطلق على المزرعة المضعفة المستعملة اسم Vaccine وهو اسم مشتق من الاسم اللاتيني Vacca أى بقرة والتي اشتق منها اسم Vaccination للدلالة على التحصين باستعمال المزارع المضعفة من البكتيريا لأكساب المناعة للحيوانات التي لا علاقة لها بالأبقار .

وقد ذاع صيت باستير وهو الكيماوى الذى قام بحل مشكلة النبيذ بفرنسا وقام بدراسة أمراض الماشية والدواجن ، ألا أن طلب منه دراسة بعض أمراض الإنسان وكان فى ذلك مخاطرة كبيرة لأنه لم يكن طبيباً ولكنه قبل التحدى عندما قام بتحضير طعم واقى من مرض الكلب Hydrophobia or rabies . وهو مرض ينتقل إلى الإنسان عن طريق عض الكلاب والققط وغيرها من الحيوانات . فقد ووجه بهذا التحدى عندما أصيب طفل يسمى جوزيف ميستر Joseph Meister بعضه ذئب مصاب بمرض الكلب ولم تتردد عائلته من انتهاز فرصة ضئيلة للغاية بأن يقوم باستير بعمل تطعيم للطفل بالطعم الذى يحضره باستير . وقد كان من المعروف أن مسبب المرض كائن صغير جداً لا يشاهد بالميكروسكوب الضوئى (فيروس) ولم ينمو قط فى المعمل فى مزرعة صناعية . وكان من المعروف أنه يمكن إحداث المرض فى الأرانب عن طريق عدواها بلعاب كلب مصاب ثم تحضير الطعم الواقى من مخ ونخاع الأرنب المصاب بعد تجفيفه لعدة أيام ثم صحنه وخلطه بالجلسرين وحقن هذا المخلوط فى الحيوانات السليمة لو قايتها من مرض الكلب . ولكن تحصين الكلاب أو الحيوانات الأخرى أمر مختلف جداً عن معاملة طفل مصاب ، ولكن باستير قام بحقن الطفل بنفس الطعم فنجى الطفل ولم يمت . ومن المعروف أن أساس علاج مرض الكلب وكذلك الجدري لم يتغير حتى الآن.

#### الجراحة المعقمة

لقد كان تلوث الجروح عقب العمليات الجراحية من الأمور الخطيرة والمحددة للجراحة والمسببة لموت كثير من المرضى خلال القرن التاسع عشر . ألا أنه فى عام ١٨٦٠ قام الجراح الانجليزى جوزيف ليستر Joseph Lister بايجاد طريقة لابعاد البكتيريا عن الجروح وعن جروح العمليات الجراحية باستعمال المطهرات الكيماوية Disinfectants . ومنذ أن عرف أن حمض الكربوليك له تأثير فى قتل البكتيريا فقد استعملت محاليلاً مخففة منه لغسيل أيدي الجراحين



ولتشجيع أغذية الجروح والضمادات وتطهير جلد المريض قبل الجراحة وبعدها الأمر الذى أدى إلى الاقلال من ثلوث الجروح وتقدم الجراحة بالطرق غير الملوثة Aseptic techniques .

### اضافات أخرى

لقد كرم كل من باستير وكوخ في أوطانهم فقد أصبح كووخ أستاذ للصحة ومدير لمعهد الأمراض المعدية الذى أسس له خصيصاً في جامعة برلين، وحصل على جائزة نوبل في سنة ١٩٠٥ ، وقامت فرنسا بإنشاء معهد باستير في باريس في سنة ١٨٨٨. وقد جاء لكوخ ولباستير طلاب من جميع أنحاء العالم ليتعلموا منهما ويدرسوا على أيديهما وليعودوا إلى أوطانهم في أمريكا وأوربا . ثم توالى بعد ذلك اكتشافات كثيرة في علم البكتيريا بمجالاته المختلفة مثل ميكروبيولوجيا التربة ، ففي سنة ١٨٨٨ قام بايجيرنيك Beijerinck بعزل البكتيريا المكونة للعقد الجذرية *Rhizobium* من جذور النباتات البقولية في مزارع نقية ، وتمكن العالم الروسى وينوجرادسكى Winogradsky (١٨٩٠-١٩٦١) من إظهار أن بكتيريا التآزت بكتيريا ذاتية التغذية ، وفي سنة ١٨٩٥ تمكن أيضاً وينوجرادسكى من عزل كائنات غير هوائية تثبت الأزوت الجوى وتعيش معيشة حرة في التربة *Clostridium pasteurianum* ، وفي ١٩٠١ قام بايجيرنيك Beijerinck بعزل ووصف البكتيريا *Azotobacter* التى تثبت الأزوت الجوى .

وفي مجال أمراض النبات تمكن العالم الأمريكى بيوريل Burrill (١٨٧٨) وهو أحد طلبة باستير- من أن يتعرف على أن المسبب الحقيقى لمرض اللفحة النارية فى الكمثرى ماهو إلا بكتيريا وتعرف هذه البكتيريا الآن باسم *Erwinia amylovora* .

وفي نهاية القرن التاسع عشر وأوائل القرن الحالى قام إيميل هانسن

Emil C. Hansen بفتح الطريق إلى دراسة صناعة التخمرات فهو أول من نادى باستعمال المزارع النقية من الخميرة والبكتيريا في صناعة الخل ثم بدأت المزارع النقية التي تعرف بالبادئات starters في التداول في الصناعات التخمرية وغيرها . فمثلا إستعمل أدامتس Adametz ( ١٨٨٩ ) الاسترالي مزارع نقية (بادئات) في صناعة الجبن كما إستعمل كون H.W. Cohn مزارع نقية من الكائنات الدقيقة في صناعة الزبد .

ومن الدراسات المبكرة للأمراض المعدية ظهر أن هناك أمراضاً تسبب عن عوامل ممرضة لا تشاهد بالميكروسكوب الضوئي وقابلة للترشيح في المرشحات البكتيرية ولا تزرع في بيئات الزرع وقد تمكن إيفانوفسكى Ivanowsky في ١٨٩٢ من إكتشاف الفيروسات القابلة للترشيح والتي تسبب تبرقش الدخان ( Tobacco mosaic disease ) ووصف فروش و لوفر Frosch, and Loffler في ١٨٩٧ عامل مرضي مشابه ويسبب مرض الحمى القلاعية في الماشية ووصف Twort في ١٩١٦ و d'Herelle في ١٩١٧ عوامل مماثلة تصيب وتسبب وتحلل البكتيريا . وتعرف هذه العوامل التي تصيب النبات والحيوان والبكتيريا بالفيروسات النباتية والحيوانية والبكتيرية أو البكتيريوفاج على التوالي .

وفي مجال المضادات الحيوية لاحظ الكسندر فلمنج Alexander Fleming في ١٩٢٩ نشاط البنسلين في تثبيط نمو البكتيريا وذكر فلمنج أن هذا المركب قد يكون له أهمية في علاج الأمراض . واستخدم فعلا بعد ذلك ابتداءً من ١٩٤٠ في مجال العلاج الكيماوي ثم توالى بعد ذلك إكتشاف العديد من المضادات الحيوية الأخرى .

وفي مجال وراثة البكتيريا إكتشف جريفتث Griffith في ١٩٢٨ أنه يمكن لسلالة معينة من البكتيريا أن تكتسب صفة من سلالة أخرى قريبة منها وتعرف هذه الظاهرة بالتحول الوراثة Transformation وقد تمكن

أفري وماك لويد وماك كارتى Avery, MacLeod and McCarty فى عام ١٩٤٤ من إثبات أن الـ DNA هو العامل الذى يسبب هذا التغيير الوراثى . وفى ١٩٤٧ تمكن تاتم ولدربرج Tatum and Lederberg من الحصول على نتائج حاسمة تدل على وجود ظاهرة إعادة تشكيل الصفات الوراثية Recombination فى البكتيريا مما يؤكد حدوث التكاثر الجنىسى فى البكتيريا .

من الملاحظ أنه خلال القرن الحالى لم يمر عام إلا وفى طياته إضافات جديدة وهامة لعلم البكتيريا . والمجال هنا لا يتسع لسرد كل هذه الاكتشافات الهامة إلى يومنا هذا إلا أنه قد يشار إلى بعضها فيما يلى من صفحات هذا الكتاب كل فى موضعه المناسب .

## المراجع

- Bulloc, K. W. 1938. The History of Bacteriology. Oxford University Press, London.
- Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia 1035 p.
- Gale, E.F. 1948. Chemical activities of Bacteria. London University Tutorial Press; New York Accademic Press.
- Levy, J., J.J.R. Campbel, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and Sons Inc. New York . 684 p.
- Masters, D. 1946. Miracle Drug. The inner history of Penicillin Egre & Spotswood, Ltd. London.
- Nester, E.W. C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. McCarthy. 1978. Microbiology. Second Edition. Holt, Rinehart and Winston. New York 769 p.
- Porter, J. R. 1946. Bacterial Chemistry and Physiology. John Wiley and Sons. New York,
- Stephenson, M. 1949. Bacterial Metabolism. 3rd Ed. Longmans, Green and Co. London.
- Thimann, K.V. 1961. The Life of bacteriaia. 3rd Printing. The Mac Millan Book Co. Geneve, New York.
- Vallery-Radort R. 1926. The life of Pasteur. translated by R.L. Devonshiri, Garden city-Books. New York.





# الباب الثاني

## الخلية البكتيرية

### الصفات المظهرية والتركيب الداخلي

لقد وصف العالم كون Cohn (١٨٧٢) البكتيريا بأنها مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة تفتقر إلى الكلوروفيل وتتكاثر خلاياها المستديرة أو البيضية أو العصوية (مستقيمة أو منحنية) عن طريق الانفلاق العرضي وتتواجد إما منفردة أو متجمعة في مستعمرات .

ولا زالت أوصاف كون للشكل المظهري للبكتيريا معترف بها إلى يومنا هذا فيما عدا وصفه لها بأنها خالية من الكلوروفيل حيث تبين فيما بعد أن بعض البكتيريات تحتوى على هذه الصبغة الخضراء .

وتتلخص دراسة الشكل المظهري في التحقق من شكل وحجم وطريقة تجمع الخلايا عقب عملية الانقسام ، وكذلك التأكد من وجود أعضاء الحركة (الأسواط flagella) وكيفية توزيعها على الخلية ، وتم هذه الدراسات بالفحص المجهرى لتحضيرات من الخلايا مصبوغة بمختلف الطرق سواء البسيطة منها أو المركبة ، أو في تحضيرات غير مصبوغة عند استعمال مجهر الأطوار المتباينة أو المجهر الالكتروني . هذا وقد يسهل على الباحث المدرب إجراء مثل هذه الدراسات المظهرية للخلايا البكتيرية إذا ما أجريت عمليات الصبغ أو التحضير بالدقة المطلوبة .

وفيما يختص بدراسة البناء الداخلي للخلية البكتيرية فيعتبر أكثر صعوبة من الدراسات المظهرية . ويرجع ذلك إلى الدقة المتناهية في حجم ووزن الخلية . فالخلية البكتيرية الواحدة يصل حجمها إلى  $6-10 \mu^2$  سم<sup>٢</sup> وتزن

ما يقرب من  $\frac{1}{10000}$  من الميكروجرام (الميكروجرام  $\frac{1}{1000}$  من الملى جرام) فكيف إذن يمكن للباحث التعرف على الأجزاء المختلفة بداخل مثل هذه الخلية المتناهية في الصغر؟

والميكروسكوب الضوئي كما سبق أن بينا لا يمكنه أن يميز تركيباً ما يقل قطره عن ٠,١٥ ميكرون أو بمعنى آخر لا يمكنه أن يميز تركيباً يقل حجمه عن  $\frac{1}{1000}$  من الحقل الميكروسكوبي أو  $\frac{1}{100}$  من عرض الخلية البكتيرية نفسها كما أنه لا يمكن من الصور الالكتروميكروسكوبية تحديد طبيعة الأجسام أو التركيبات التي تشاهد داخل الخلايا البكتيرية على وجه الدقة ، لهذا فإن الدراسات الخاصة بالتنظيم الخلوى أو بمعنى آخر البناء الداخلى للخلية البكتيرية تتم بالطرق التشريحية الكيماوية Chemical dissection أو بالطرق السيتوكيماوية Cytochemical والتي تتطلب الحصول على تجزئات مختلفة different fractions من الخلية ودراسة التركيب الكيماوى والوظيفة الرئيسية لكل منها .

## الفصل الأول الصفات المورفولوجية

### Cellular Morphology

إن الدراسات المظهرية للخلية البكتيرية تتضمن معرفة حجمها Size وشكلها Shape وطريقة التجمع والترتيب Arrangement والحركة . وبالرغم من صغر حجم الخلية البكتيرية ، إلا أنه يمكن قياسه بالدقة الكافية وتبعاً لنوع البكتيريا فإن الخلايا الفردية منها إما أن تكون مستديرة أو عصوية أو منحنية قليلاً أو كثيراً أو محتوية على عدة انحناءات لتظهر بشكل حلزوني أو بريعى . وعلاوة على ذلك فإن خلايا بعض الأنواع البكتيرية تنظم نفسها في تجمعات مختلفة منها التجمعات المزدوجة أو العنقودية أو السبحية . ويتحتم على الدارس معرفة هذه التجمعات لأهميتها في الأغراض التصنيفية .

### حجم الخلايا البكتيرية

معظم خلايا البكتيريا العصوية ذات أبعاد  $2 - 5 \times 5 - 10 \mu m$  ميكرومتر ( $\mu m = \frac{1}{1000} mm$ ) والخلايا الكروية منها مثل خلايا أنواع *Staphylococci* أو *Streptococci* يتراوح قطرها بين ٧٥ و ١,٢٥  $\mu m$  وهناك بعض البكتيريات التي تتميز خلاياها بتكون خيوط طويلة تصل إلى ١٠٠  $\mu m$  أو أكثر .

ولتوضيح مدى صغر حجم البكتيريا فإن فراغ حجمه ١ بوصة مكعبة يمكنه أن يحوى ٩ تريليون trillion من الخلايا العصوية متوسطة الحجم وأن جرام واحد من هذه الخلايا يحتوى تقريبا على تريليون من الخلايا البكتيرية . وعادة تفحص الخلايا ميكروسكوبيا بعد تكبيرها عدة مرات

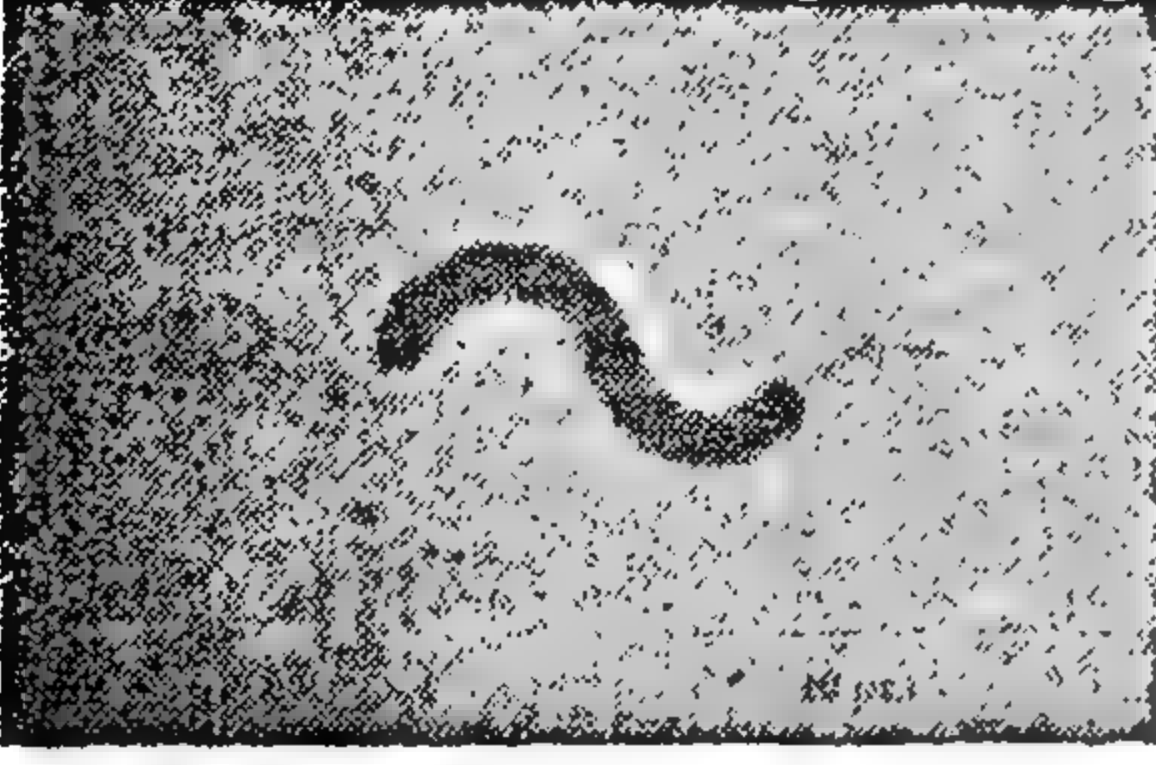


تصل الى ١٠٠٠ مرة حتى يمكن تمييزها . ولصغر حجم الخلية البكتيرية أهمية للخلية نفسها فان نسبة السطح الى الحجم  $\text{surface area} / \text{volume}$  في البكتيريا يعتبر كبير جداً اذا ما قورن بنفس النسبة في الكائنات الأخرى ففي حالة الكرويات الصغيرة فان نسبة السطح الى الحجم تكون ١٢٠,٠٠٠ وفي حالة الاميبا اذا ما اعتبرناها تجاوزا كاملة الاستدارة وذات قطر  $150 \mu m$  فان النسبة المذكورة تصل الى ٤٠٠ ، ونفس النسبة في حالة بيض الدجاج تصل ١,٥ ، وفي الانسان الذي يزن ٢٠٠ رطل تكون النسبة ٠,٣ . وحيث أن السطح الحلوى للبكتيريا يعتبر مسرحا لمعظم التفاعلات الأيضية على اختلافها فان الزيادة الكبيرة في نسبة سطح الخلية البكتيرية الى حجمها يفسر لنا مدى النشاط الكبير الملحوظ في تفاعلاتها الأيضية . ويؤيد ذلك قدرة البكتيريا المخمرة لسكر اللاكتوز على هدم كمية كبيرة جداً من هذا السكر تتراوح بين ألف إلى عشرة آلاف مرة قدر وزنها في خلال ساعة واحدة من الزمن . وإذا قدرنا الوقت الذي يكفى لكى يستهلك انسان متوسط الوزن كمية من السكر تقدر بألف مرة قدر وزنه لاحتاج الى فترة تصل الى ٢٥٠,٠٠٠ ساعة أو بمعنى آخر لاحتاج الى مدة تزيد عن متوسط حياته .

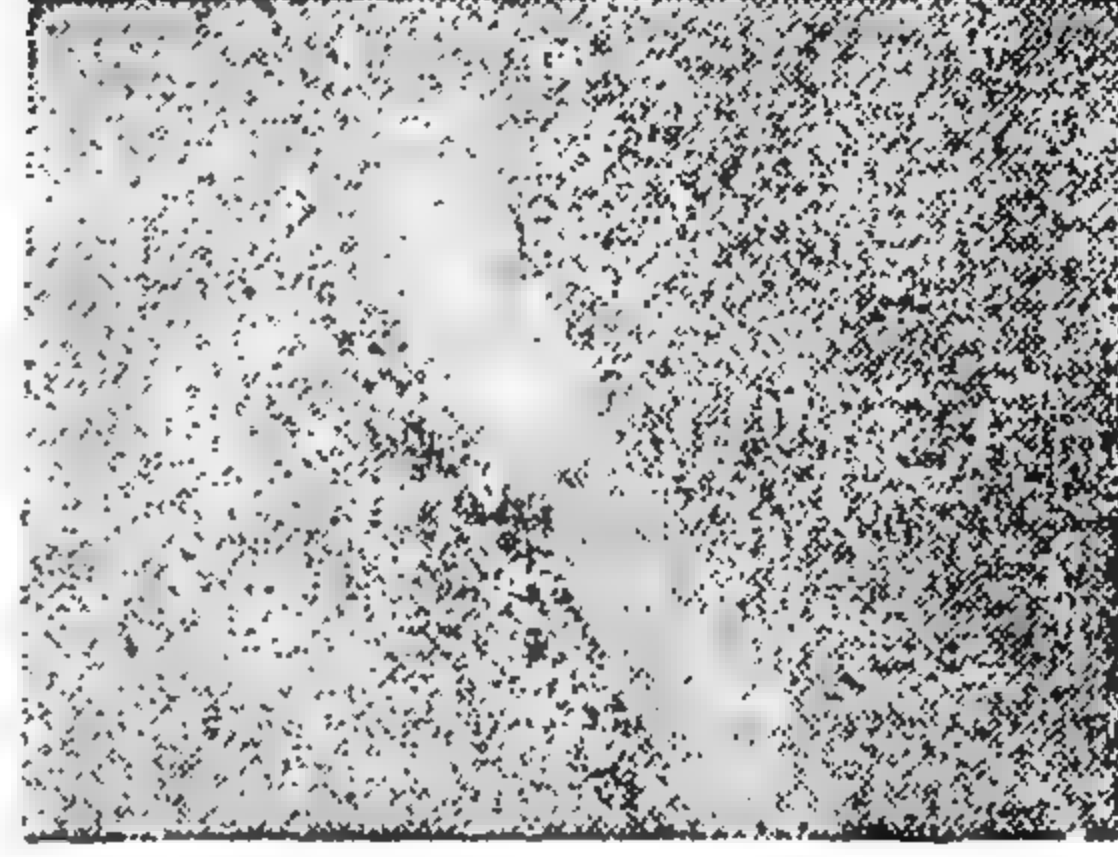
### شكل وتجمع أو ترتيب الخلايا البكتيرية

Shape and arrangement of bacterial cells.

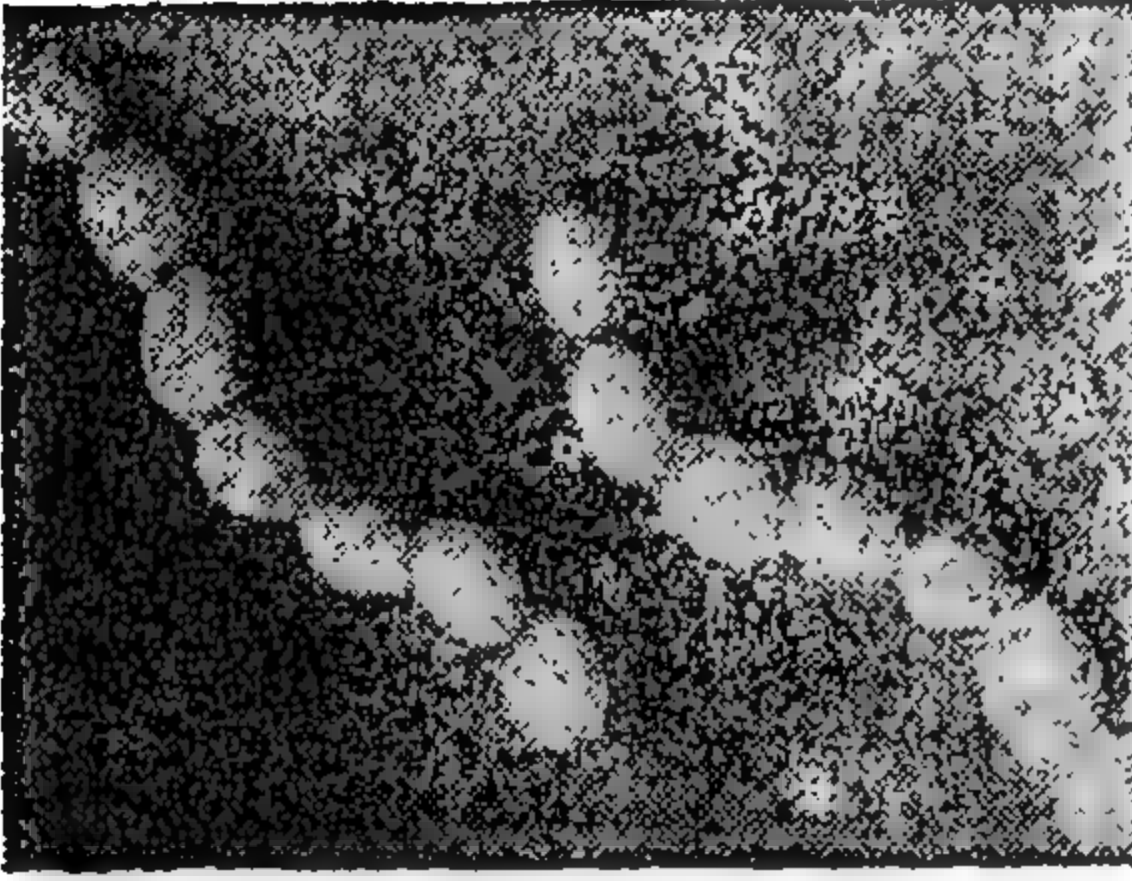
بالرغم من وجود عدد كبير من الأنواع المختلفة من البكتيريا فإن الخلية الفردية من البكتيريا الحقيقية تكون إما كروية Spherical أو تتخذ شكل العصا المستقيمة أو الاسطوانة Cylindrical or rod like أو تكون حلزونية helicoidal or spiral ( شكل ٤ ) .



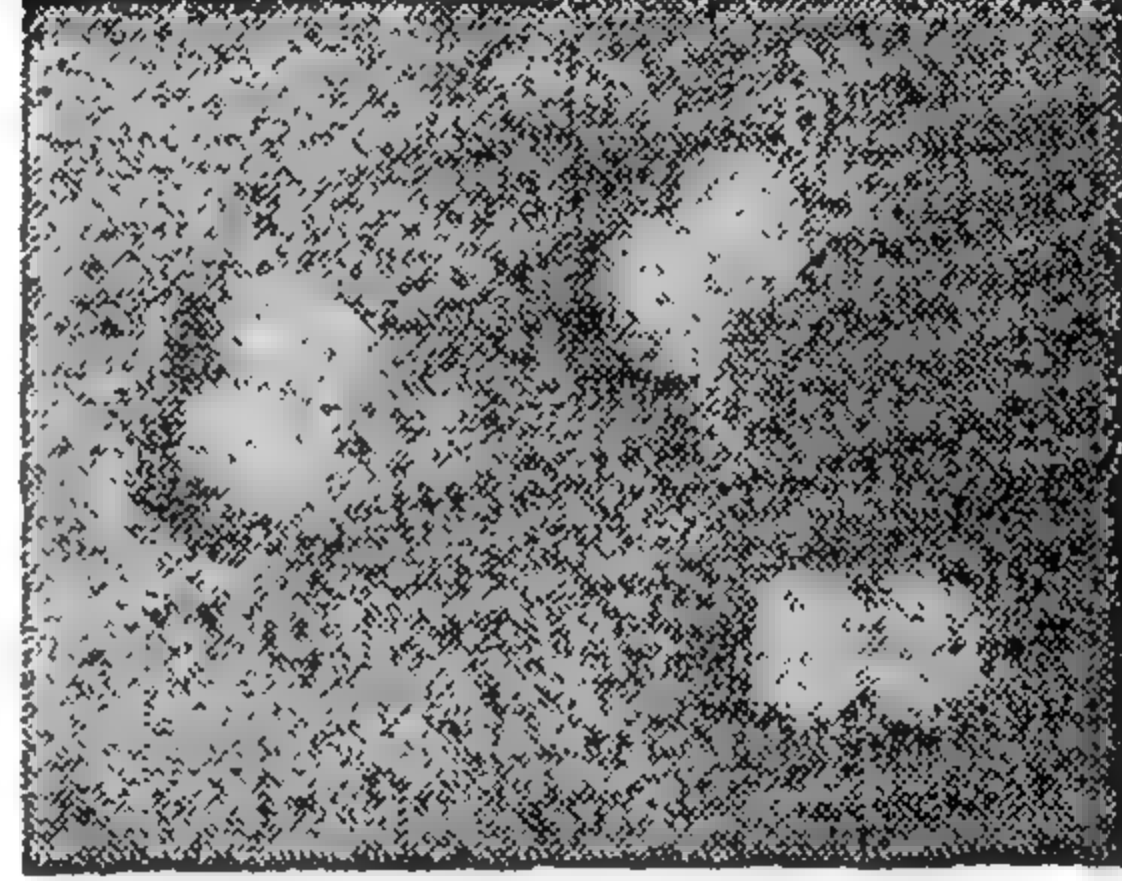
بكتيريا حلزونية



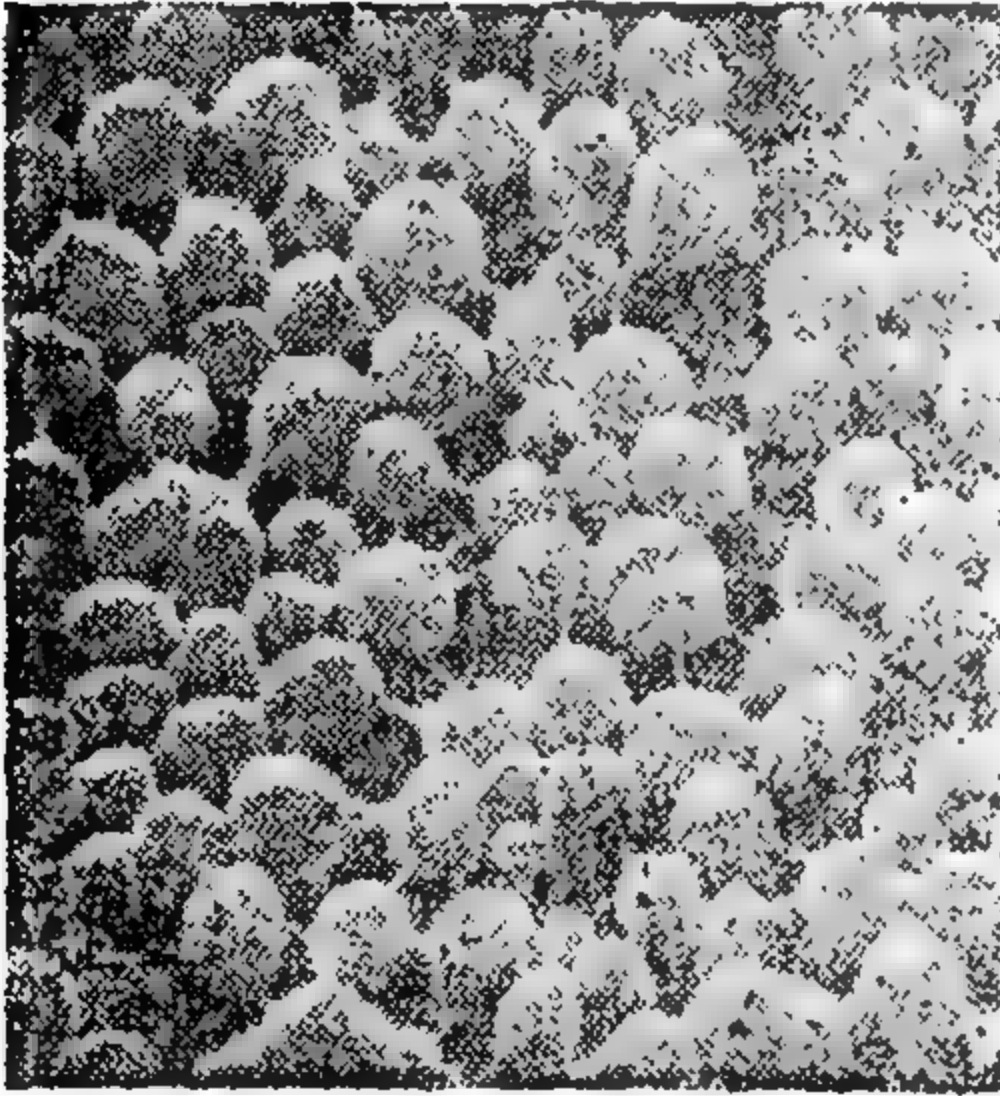
بكتيريا عصوية  
*Clostridium perfringens*



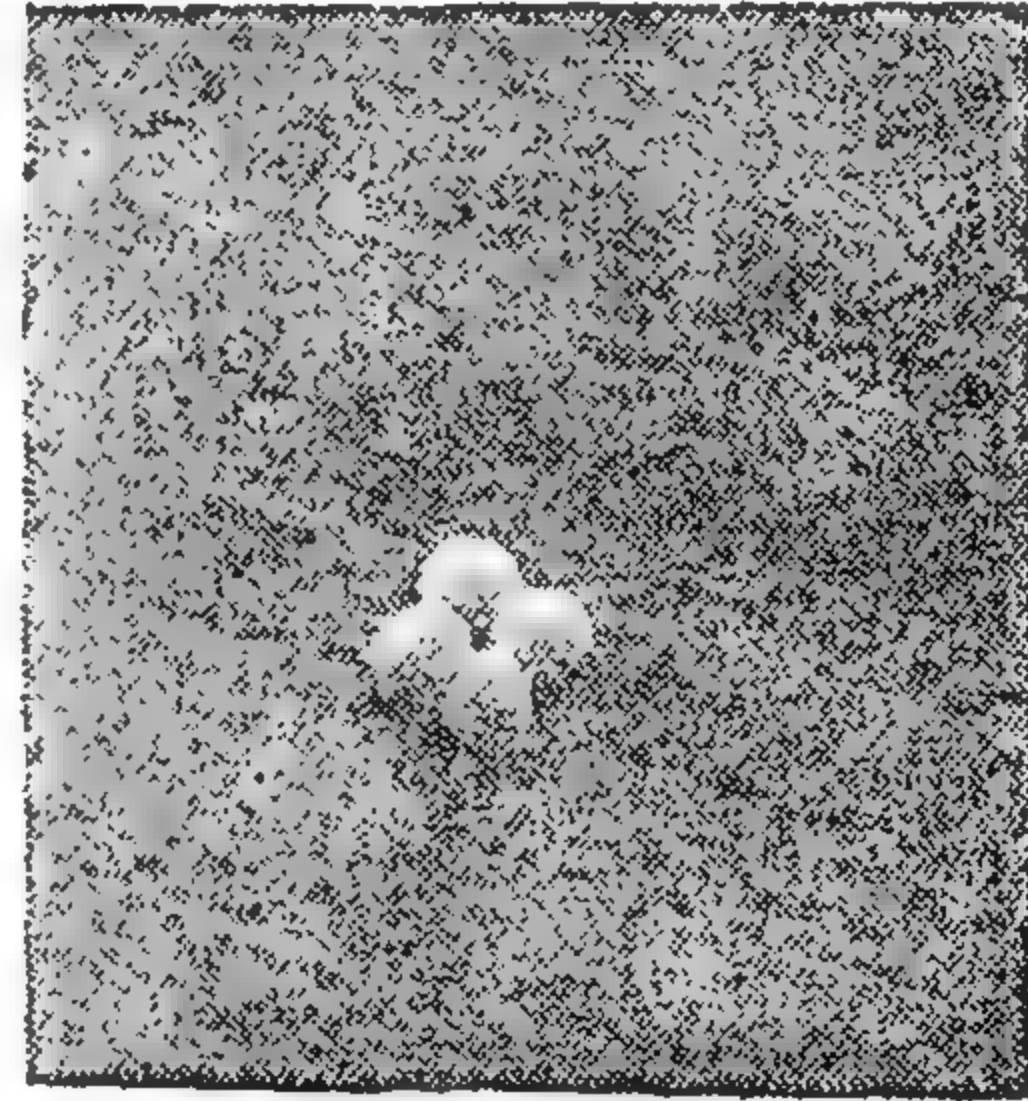
بكتيريا كروية في سلاسل  
*Streptococcus* sp.



بكتيريا كروية في ازواج  
*Neisseria gonorrhoeae*



بكتيريا كروية في عناقيد  
*Staphylococcus* sp.



بكتيريا كروية في تجمع رباعي

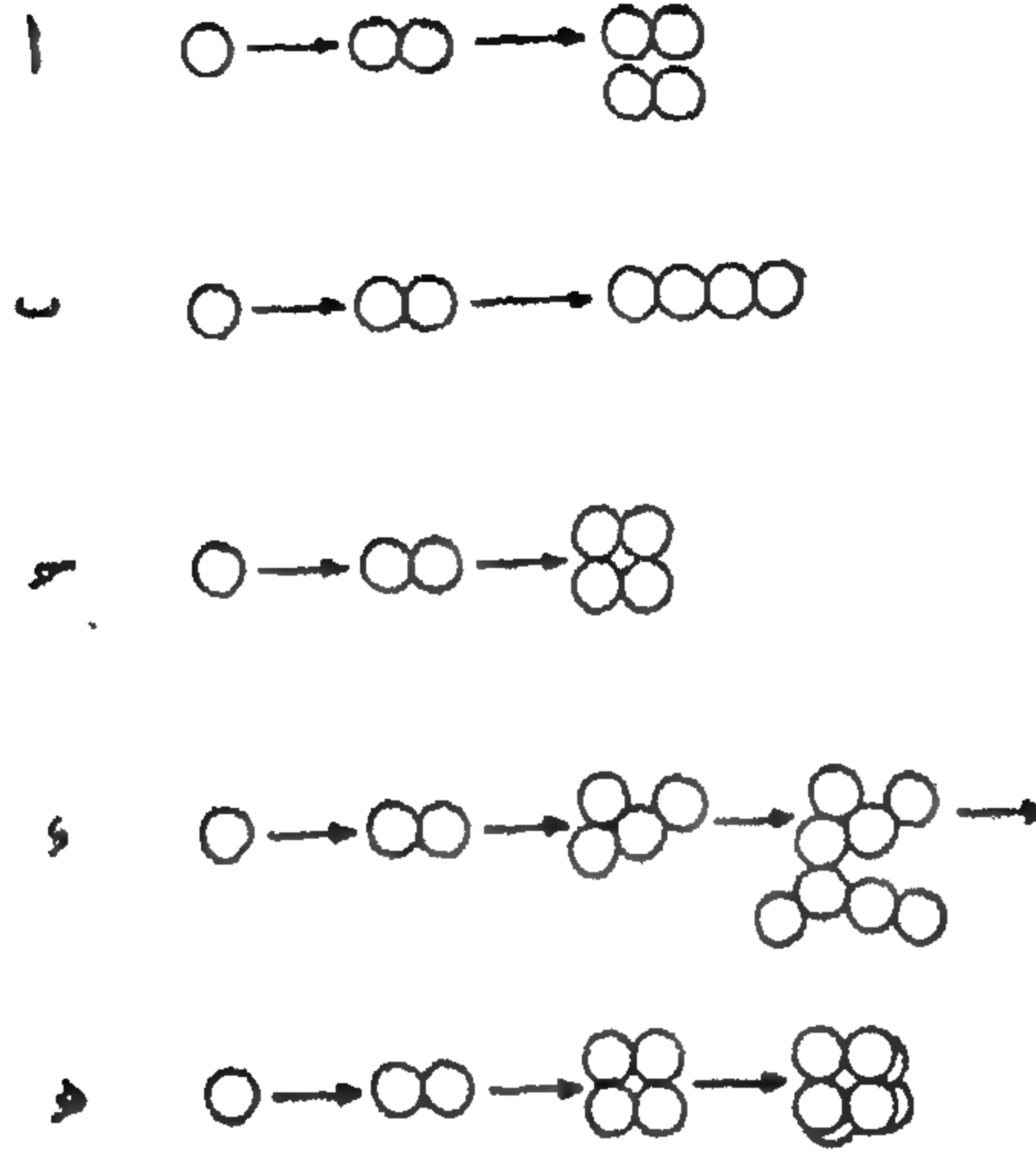
شكل ٤ : الأشكال الشائعة للبكتيريا . صور إلكتروميكروسكوبية للشكل الكروي بتشبهاته المختلفة والشكل العصوي أما الشكل الحلزوني فهو مصور من مجهر الأطوار المتباينة (عن Nester et al. 1973, Hugo 1972)

## ١ — البكتيريا المستديرة Spheres

يطلق على الخلايا الكروية اسم *cocci* ومفردها *coccus* وكثير من هذه البكتيريا لها نظم تجمع (شكل ٥) لها أهميتها في أغراض التعريف . فمنها ما يوجد في أزواج *Diplococcus* أو في سلسلة (سبحية) *Streptococcus* أو في مجاميع رباعية مسطحة *Tetrads* أو عناقيد غير منتظمة تشبه عنقود العنب *Staphylococcus* أو في تركيب ذو ثلاثة أبعاد (مكعبات مكونة من ٨ خلايا أو أكثر) *Sarcina* وهذا التجمع للبكتيريا الكروية يمكن تفسيره نتيجة لارتباط الخلايا الناتجة عقب التكاثر عن طريق الانفلاق الثنائي *binary fission* حيث أن الخلية المفردة تنقسم لتكون خليتين جديدتين في مستوى واحد أو اتجاه واحد ، والخليتان الجديدتان تبقى كل منها متصلة بالأخرى . وبعد فترة أخرى من الوقت يتكرر الانقسام وتكون ٤ خلايا أي زوجين من الخلايا يفصل كل زوج منهما عن الآخر وبذلك تتجمع الكرويات في أزواج ويعرف نظام التجمع باسم *Diplococcus* . وتعتبر البكتيريا *Pneumococci* المسببة للالتهاب الرئوي مثالا لهذا النوع من التجمع .

و إذا حدث التكاثر في مستوى واحد مثل السابق ولكن ظلت الخلايا الناتجة عن عديد من الانقسامات المتتالية متصلة ببعضها فإن التركيب الناتج سوف يتخذ شكل السلسلة أو السبحة ويعرف باسم *Streptococcus* الذي يميز أفراد جنس *Streptococcus* ، وتعتبر البكتيريا المسببة لحموضة اللبن *Streptococcus lactis* والبكتيريا الممرضة *S. pyogenes* من الأمثلة الواضحة لهذا النوع من التجمع .

أما الخلايا الكروية التي تنقسم بالتتابع في مستويين أو اتجاهين مختلفين متعامدين على بعضهما ، تكون مجاميع رباعية مسطحة *Tetrads* ويتميز أفراد جنس *Pediococcus* بهذا النوع من التجمع .



شكل ه : كيفية حدوث التجمعات الخلوية المختلفة للبكتيريا الكروية أثناء الانقسامات الخلوية .

- (أ) التجمع في أزواج *Diplococcus* (ب) تجمع في شكل سلسلة *Streptococcus*  
 (ج) مجموعة رباعية مسطحة *Tetrad* (د) عناقيد غير منتظمة *Staphylococcus*  
 (هـ) مكعب من الخلايا *Sarcinae* .

وتوجد أنواع أخرى تنقسم في ثلاثة مستويات ولكن بدون نظام معين ينتج عنها عناقيد غير منتظمة *Staphylococcus* وتعتبر أنواع جنس *Staphylococcus* ومنها *S. aureus* من الأمثلة الواضحة لهذا النوع من التجمع .

بعض الكرويات تنقسم في ثلاثة مستويات أو اتجاهات متعامدة على بعضها لتكون مكعبات *Sarcinae* من الخلايا تتكون كل منها من ثماني خلايا أو مضاعفاتهما ، وتشمل هذه المجموعة عدداً من البكتيريا المترمة والتي تحمل في الهواء مثل البكتيريا التابعة للجنس *Sarcina* .



مما تقدم يتضح أن كل من نماذج تجمعات الخلايا الكروية تعتبر صفة مميزة لجنس من أجناس البكتيريا الكروية يمكن اعتباره صفة هامة من صفات التصنيف والتقسيم، لذلك كان من الواجب عند وصف الشكل الظاهري للخلايا الكروية الإشارة إلى طريقة تجمع الخلايا. ومن الملاحظ أنه نادرا ما تكون كل الخلايا في نوع معين مرتبة في نظام نموذجي ولكن الترتيب أو التجمع السائد هو الصفة الأساسية.

## ٢ — البكتيريا العصوية المستقيمة

الخلايا البكتيرية التي تشبه العصا rod like يطلق عليها *Bacilli* ومفردها *Bacillus*، وعادة لا تنظم الخلايا العصوية في تجمعات مميزة لأجناسها كما يحدث في البكتيريا المستديرة. ولكن أحيانا تشاهد في أزواج ويطلق عليها *diplobacilli* أو في سلاسل *Streptobacilli* وفي غالبية الأحيان لا يعتبر التجمع نموذجا مرفولوجيا مميزا ولكنه يعزى إلى مرحلة من مراحل النمو أو إلى الظروف السائدة في البيئة، أي أنها ليست تجمعات ثابتة ومميزة للنوع. وتختلف مقاييس أنواع البكتيريا العصوية في قياساتها فبعضها ذو خلايا طويلة والبعض الآخر يزيد طول خلاياه قليلا عن عرضها، في حين أن هناك أنواعا يصل طولها إلى أكثر من عدة مرات قدر عرضها.

بعض البكتيريا العصوية الشكل قد تتحول إلى أطوار مقاومة للحرارة تعرف بالجراثيم الداخلية Endospores كما في الجنس *Bacillus* والجنس *Clostridium*.

## ٣ — البكتيريا ذات الشكل الحلزوني

عادة لا تتجمع خلايا البكتريات الحلزونية ببعضها بل توجد مفردة دائماً. والخلايا الفردية للأنواع الحلزونية تظهر أشكالا مختلفة من حيث

الطول وعدد الانحناءات وصلابة الجدر الخلوية . فبعضها قصير وتعتبر عصا منحنية ذات انحناء واحد والبعض الآخر يكون طويل ويظهر سلسلة من الانحناءات والالتواءات . والخلايا القصيرة التي تكون حلزون غير كامل ذو انحناءة واحدة تسمى بكتيريا ضمية Comma أو *Vibrio* مثل البكتيريا المسببة لمرض الكوليرا *Vibrio cholerae* .

والبكتيريا العصوية التي تحتوى خلاياها على عدة انحناءات قد تبدو كالحلزون أو اللولب ويطلق عليها البكتيريا الحلزونية *Spirilla* ومفردها *Spirillum* ( شكل ٤ ) .

#### ٤ — الأشكال الأخرى للبكتيريا

معظم الدراسات المورفولوجية سألقة الذكر قد تمت على أنواع وأجناس البكتيريا الحقيقية *True bacteria* في حين أن هناك عدة مجاميع من الكائنات الدقيقة التي تصنف تحت مملكة الكائنات الميكروبية تختلف في شكلها المظهري عن ما سبق وصفه فتكون أجسامها بشكل خيوط تعرف بالهيفات أو الترايكومات وهذه الخيوط قد تحاط بأغلفة خاصة تعرف بالـ *sheaths* أو لا تغلف إطلاقاً — وقد تكون أجسام ثمرية جالسة أو ذات أعناق — ومن هذه المجاميع ما يلي : —

#### أ — الأكتينومييسيتات

وهي مجموعة كبيرة من الكائنات الدقيقة التي تشبه الفطريات حيث تتميز أفرادها بتكوين ميسيليوم خيطى متفرع مكون من هيفات رفيعة وطويلة غير مقسمة بجدر عرضية وذات تفرعات عديدة قد تبدو مشابهة لهيفات الفطريات الطحلبية *Phycomycetes* إلا أن ميسيليوم الأكتينومييسيتات ميسيليوم دقيق لا يتعدى قطر هيفاته ١٥  $\mu\text{m}$  في حين أن هيفات الفطريات الطحلبية يصل قطرها إلى ٥  $\mu\text{m}$  أو أكثر لذلك فقد صنف

هذه الكائنات مع البكتيريا نظرا لدقة حجمها . وإذا نمت الاكتينومييسيتات وخاصة أفراد الجنس *Actinomyces* لمدة يوم أو يومين على بيئات آجار مناسبة تبدأ الهيفات في التجزؤ إلى أجزاء فردية عصوية أو دائرية الشكل . أما أفراد الجنس *Streptomyces* فتعطى ميسيليوما مكونا لمستعمرات سطحية ذات قوام صلب أو طباشيري ثم لا يلبث أن يرتفع النمو عن سطح البيئة مكونا ميسيليوما هوائيا تحمل الهيفات الهوائية منها سلاسل من الجراثيم الكونيدية ( شكل ٦ ) .

#### ب — الكوريني بكتيريا *Corynebacteria*

ضمت هذه البكتيريا إلى قسم الاكتينومييسيتات وهي عصويات مستقيمة أو منحنية قليلا وعند صبغها يلاحظ بداخلها مناطق غير منتظمة الصبغ وذلك لكثرة احتوائها في كثير من الأحيان على حبيبات الفوليوتين *Volutin granules* وغالبا تظهر بالخلايا انتفاخات بحيث تظهر وكأنها صولجانية ( شكل ٧ ) . والخلايا لها ميل لتكون تجمعات من الخلايا تقع الواحدة بجوار الأخرى مثل عيدان الكبريت قد تسمى بالترتيب العمادي *Palisade arrangement* أو بشكل الحروف الصينية . وهي غالبا غير متحركة وموجبة لصبغة جرام . والنوع المثالي منها يتمثل في البكتيريا المسببة لمرض الدفتيريا *Corynebacterium diptheriae* .

#### ج — الميكوبكتيريا *Mycobacteria*

ضمت هذه البكتيريا إلى الاكتينومييسيتات نظرا لمظهر خلاياها الذي يبدو وكأنه متفرعا . وخلايا هذا الجنس من البكتيريا عصويات مستقيمة أو قليلة الانحناء في بعض الأحيان قد تكون خيوط ، سرعان ما تتكسر إلى وحدات عصوية كبيرة أو قصيرة ( شكل ٨ ) وعندما تصبغ هذه البكتيريا بصبغة الفوكسين القاعدي المذاب في محلول مائي للفينول فإن الخلايا تقبل



شكل ٦ : صورة ميكروسكوبية للبكتيريا *Streptomyces* sp .  
لاحظ سلاسل الجراثيم الكونيدية المشار إليها بالسهم A وكذلك الجراثيم الكونيدية المبثثة  
والمشار إليها بالسهم B. (X ٢٢٥٠) ، (عن Klieneberger - Nobel 1965)  
الصبغة ولا تخرج منها حتى عقب المعاملة بالكحول الحامض وهذه الصفة  
تعرف بالصبغ المقاوم للأحماض Acid fastness . والأنواع التي ينطبق  
عليها الصفات السالفة الذكر هي البكتيريا المسببة لمرض السل  
*Mycobacterium tuberculosis* والبكتيريا المسببة لمرض الجذام (*M. leprae* (leprosy))  
د - البكتيريا الهلامية *Myxobacteria*

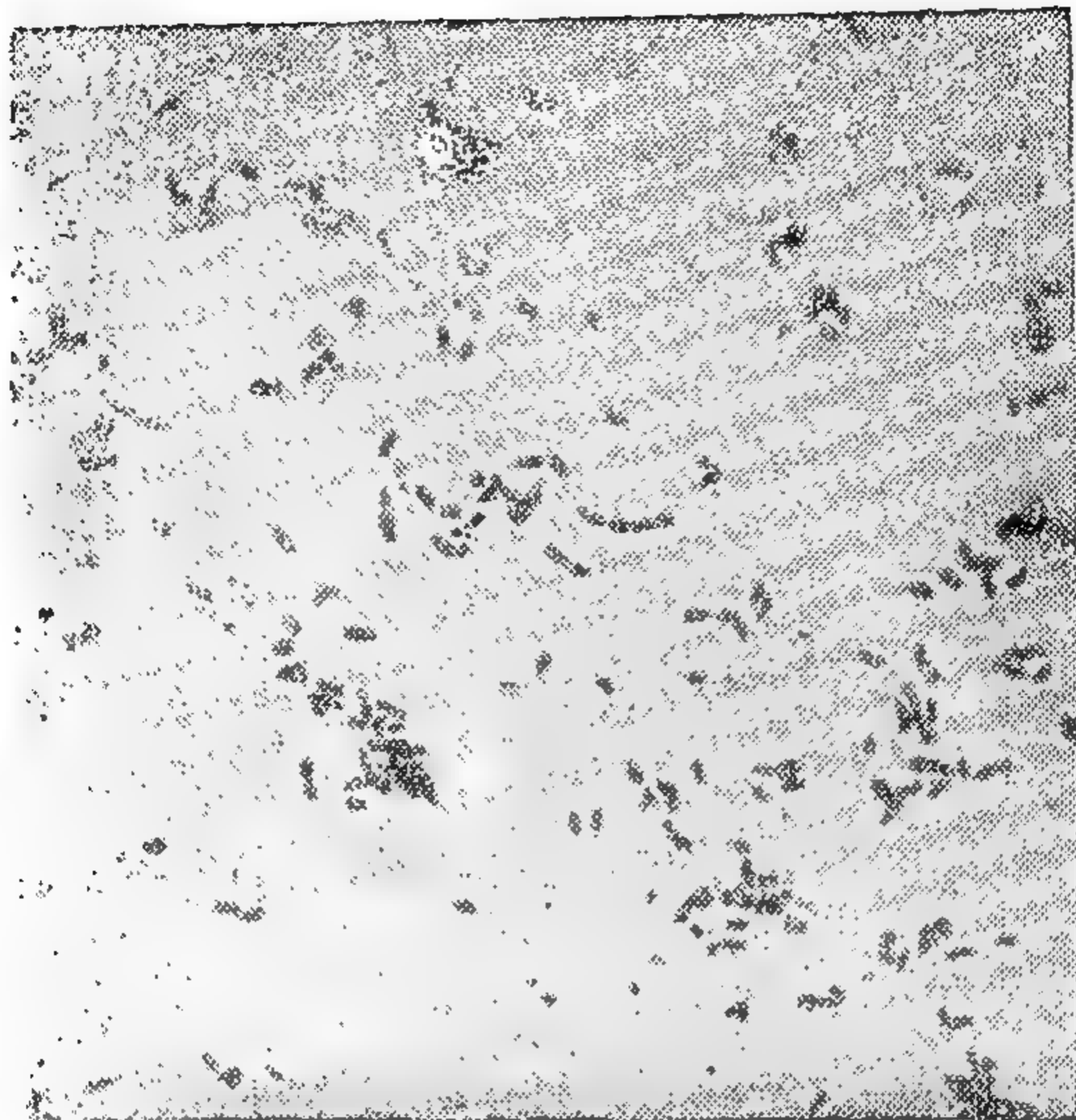
إن للبكتيريا الهلامية بعض الصفات المميزة لها عن باقي المجاميع  
البكتيرية فالحلية الفردية لها القدرة على التحرك حركة انزلاقية رغم



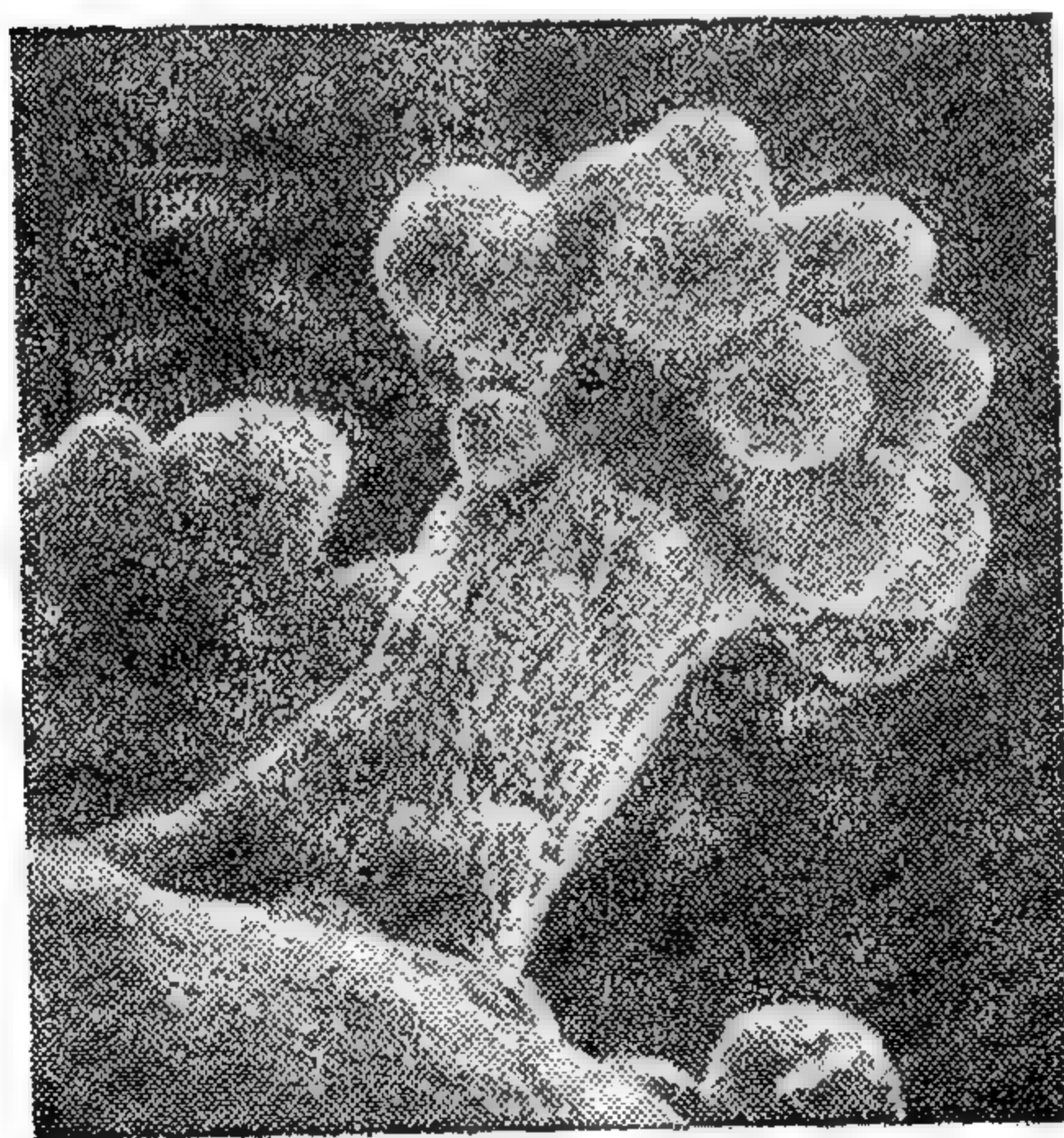


شكل ٧ : صورة لخلايا الكوريني بكتيريا ( *Corynebacterium diphtheriae* )  
باستعمال مجهر تباين الأطوار ( عن Nester et al. 1973 )

عدم امتلاكها أعضاء خاصة بالحركة . وصفة أخرى مميزة لهذه المجموعة هي قدرتها على التجمع في مجاميع swarms تظهر بشكل كتل هلامية ، لها القدرة على التحرك الجماعي في اتجاه واحد تعرف بالمجاميع المنزقة ولكل خلية من الخلايا المكونة للمجموعة المتحركة نواتين أو تركيبين نوويين مميزين ، وباستمرار نمو الخلايا في المجموع المتحرك يتغير بشكل الخلايا الفردية منه وتصبح أقصر طولاً ، بيضية أو كروية الشكل ثم تحيط نفسها بجدار خارجي سميك . وتعرف الخلية حينئذ بالحويصلة microcyst وترتبط الحويصلات ببعضها بطبقة هلامية شميكة مكونة لما يعرف بالجسم الثمري Fruit body . وفي بعض الأنواع تتخذ الأجسام الثمرية أشكالاً مميزة فقد تكون جالسة أو ذات عنق ( شكل ٩ ) ، وعادة تكون الأجسام الثمرية ملونة بلون أصفر أو برتقالي أو أحمر .



شكل ٨ : خلايا بكتيريا تابعة للجنس *Mycobacteria*  
(  $1000 \times$  ) ( عن Burrows 1973 )



شكل ٩ : جسم ثمرى لأحد أنواع الـ *Myxobacteria*  
( *Chondromyces crocatus* ) ( عن Pangborn et al. 1975 )

## المراجع

- Anderson, R. J. 1940. The Chemistry of Lipids of Harvey Lectures 35. 271 — 313.
- Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Edition. The Williams Company, Baltimore. 1268 p.
- Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1035 p.
- Dubos, R.J. 1947. The Bacterial Cell. Cambridge, Mass. Harvard University Press.
- Henrici, A.T., and D.E. Johnson. 1935. J. Bact. 29 : 3—4, 30 : 61 — 86.
- Hugo, W.B. 1972. An Introduction to Microbiology. Second Edition. William Heinemann Medical Books LTD, London. 162 p.
- Klieneberger-Nobel, E. 1965. Focus on Bacteria. Academic Press, London and New York 145 p.
- Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. McCarthy. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston., New York. 769p.
- Pangborn, J., P.L. Grillione, and Pangborn. 1975. J. Bacteriol. 124 : 1558.
- Stanier, R.Y., M. Doudoroff and E.A. Adelberg. 1972. General Microbiology. The Macmillan. Press LTD, London 873 p.
- Thimann, K.V. 1961. The Life of Bacteria. The Macmillan Company, New York, 775 p.
- Wilson, G.S. and A.A. Miles. 1964. Topley and Wilson's Principles Bacteriology Volume 1 and 2. Fifth Edition, Edward Arnold (Publishers), London.

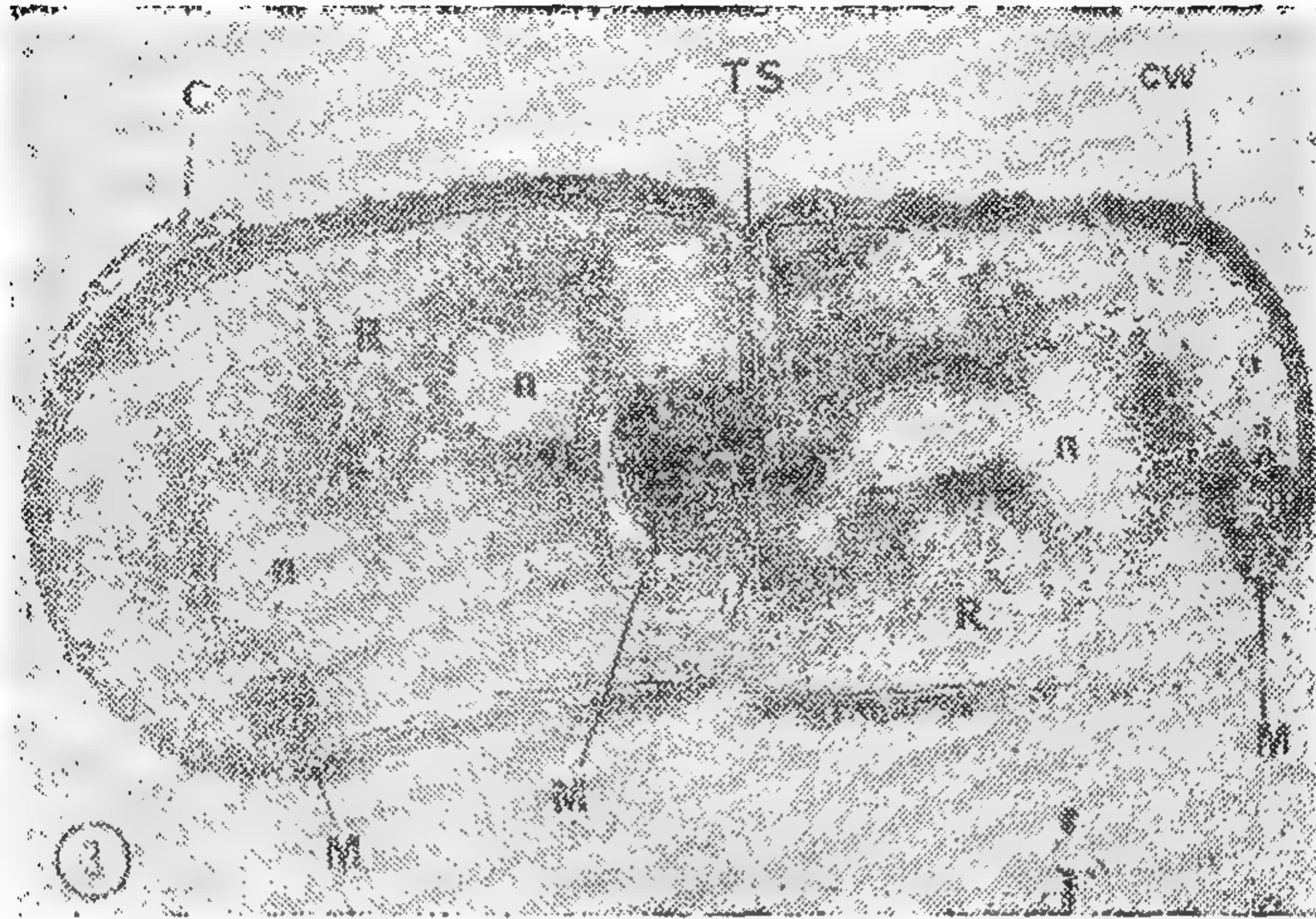
## الفصل الثانى

### التركيب الداخلى للخلية البكتيرية

إن دراسة التركيب الداخلى أو التركيب التشريحي للخلية البكتيرية ليس بالسهولة التى يدرس بها تشريح الخلايا النباتية أو الحيوانية . ويرجع ذلك إلى دقة حجم الخلية البكتيرية . ويستغل الميكروسكوب الالكترونى فى مثل هذه الدراسات، حيث أمكن بواسطة إيضاح التركيب الداخلى للخلايا البكتيرية الكاملة . ويمكن أيضا إجراء عمليات العزل الكيماوى المتجزىء fractionation والحصول على تجزؤات كيماوية مختلفة different fractions من الخلية البكتيرية وفحص ودراسة كل منها للتحقق من طبيعته الكيماوية توطئة لتفهم الوظيفة التى يؤديها للخلية .

والخلية البكتيرية تتركب من سطح خلوى ومن تركيبات داخلية تقع تحت هذا السطح (شكلى ١٠، ١١) ويتركب السطح الخلوى من منطقة الغلاف capsular area ، والجدار الخلوى cell wall ، والغشاء الخلوى cell membrane والذى يعتبر أيضا ضمن المحتويات الداخلية وتوجد أيضا منطقة تسمى بريبلازم periplasm بين الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى أما التركيبات التى توجد بداخل الخلية فهى تشمل السيتوبلازم ، والجهاز النووى nucleoplasm ، والميزوسومات mesosomes ، والريبوسومات ribosomes ، والحبيبات granules ، وحوامل الألوان chromatophores ، وسوف يشمل هذا الفصل وصفاً لكل من التراكيب الأساسية المذكورة لمعرفة تركيبها والوظائف الحيوية التى يؤديها كل للخلية .

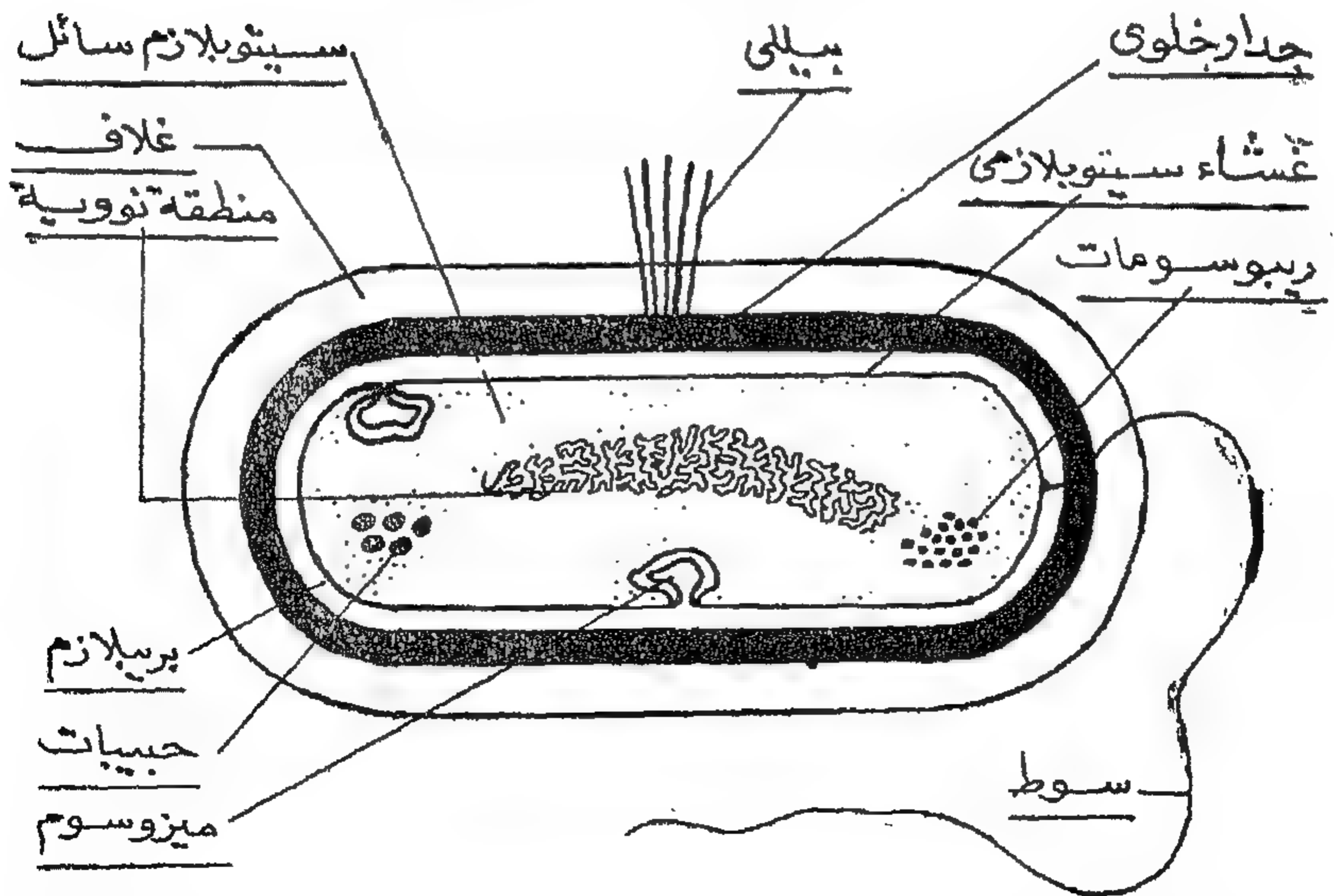




شكل ١٠ : صورة إلكتروميكروسكوبية لخلية من البكتيريا *Bacillus megaterium* في مرحلة الانقسام .

CW = الجدار الخلوي	TS = حاجز عرضي
C = الغلاف	M = ميزوسوم
R = ريبوسومات	n = منطقة نووية

(عن Lundgren et al. 1967)



شكل ١١ : رسم تخطيطي لقطاع عرضي في خلية بكتيرية يبين التراكيب الخلوية الأساسية

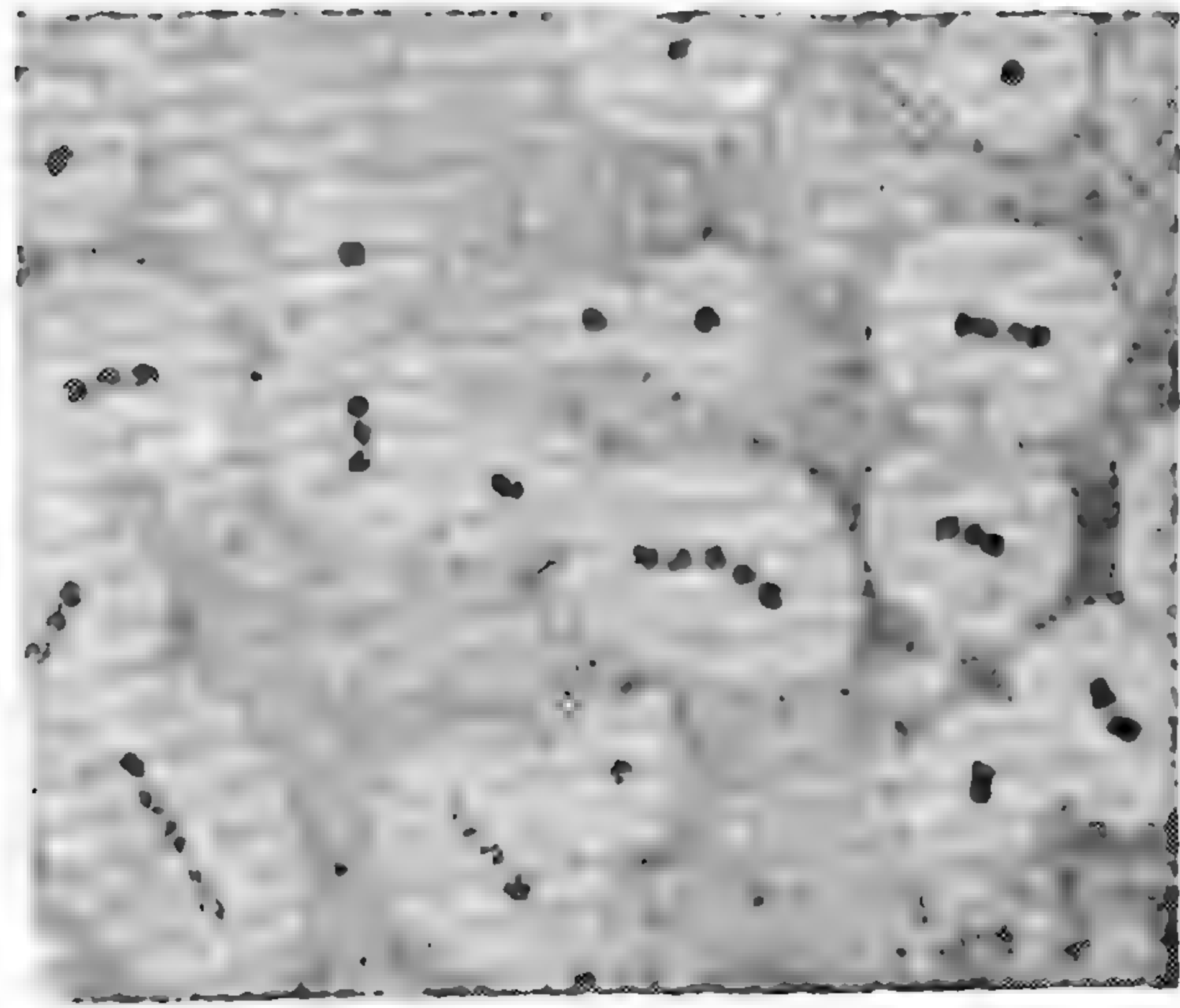
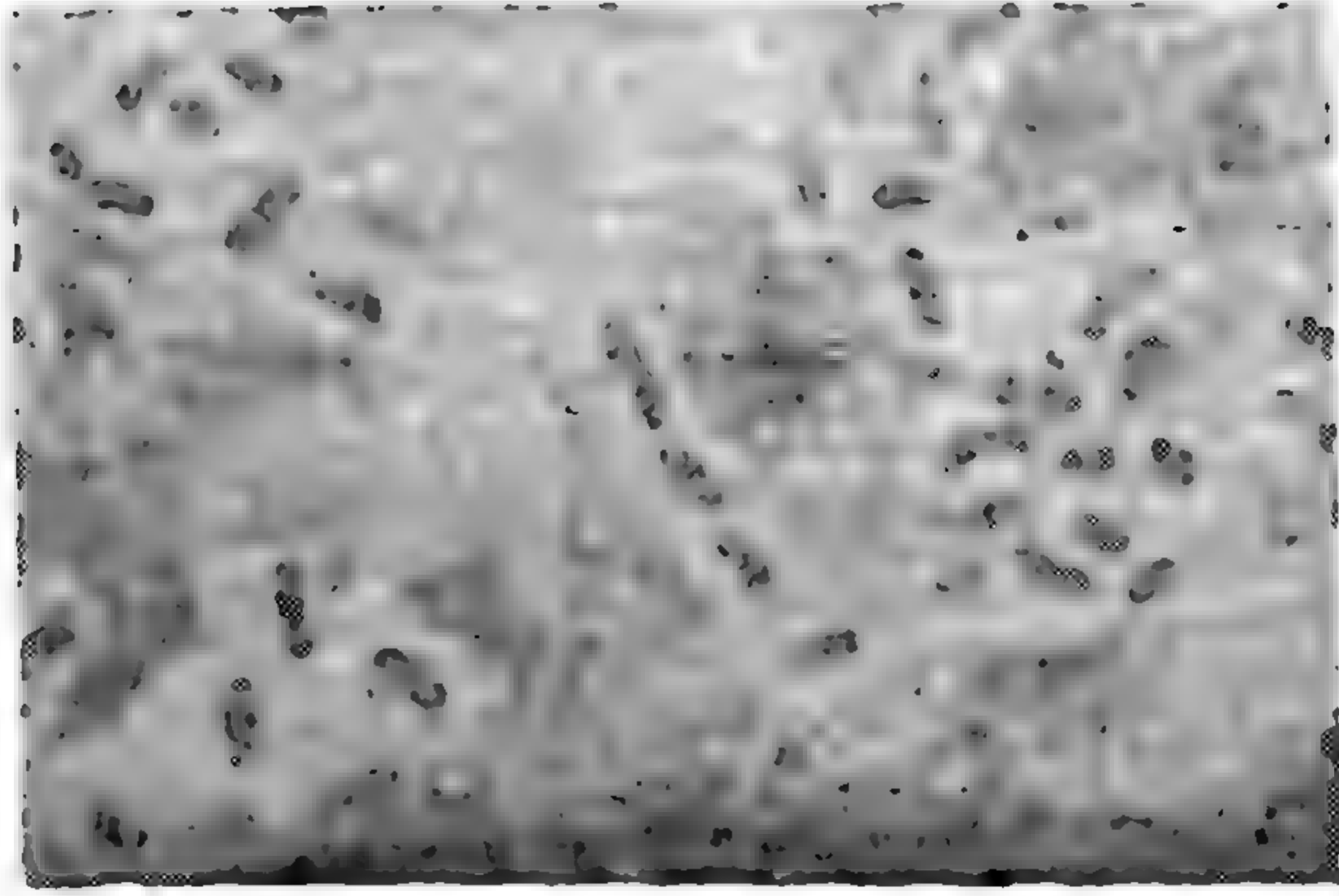
## أولا : السطح الخلوى

### ١ — الغلاف Capsule

تحاط البكتيريا بطبقة هلامية slimy أو لزجة viscous تسمى الغلاف capsule كما يطلق عليها أسماء أخرى منها الطبقة الخارجية outer layer . أو الهلامية slime layer . ويتراوح سمك هذه الطبقة بين الأغشية الرقيقة جدا يصعب تحديدها وتعرف بالأغلفة الدقيقة microcapsules إلى طبقات كثيفة يربو سمكها على قطر الخلية البكتيرية نفسها ( شكل ١٢ ) . وفى بعض الأنواع لا تكون طبقة الغلاف متساوية السمك حول سطح الخلية . وقد تذوب المواد الهلامية المكونة لطبقة الغلاف فى البيئة ويؤدى ذلك إلى زيادة لزوجة المزرعة . وبذلك فإنه فى الحالة الأخيرة قد لا يظهر أى أثر للغلاف حول الخلية بالرغم من قدرتها على إفراز مادة الغلاف . وعادة لا تظهر طبقة الغلاف عند صبغ أغشية الخلايا بالطرق العادية ، وذلك لفشل هذه الطبقة فى الاحتفاظ بالصبغة . لذا يفضل استعمال طرقا خاصة لتوضيح طبقة الغلاف هذه .

والتركيب الكيماوى للغلاف يختلف باختلاف النوع وقد يختلف حتى بين سلالات نفس النوع البكتيرى . وجدول ٢ يوضح مدى الاختلاف فى التركيب الكيماوى لطبقة الغلاف فى بعض الأنواع والسلالات البكتيرية المختلفة.

ومن الملاحظ أنه توجد بعض أنواع من البكتيريا لا تحتوى إطلاقاً على طبقة غلاف وبعض أنواع أخرى قد تفقد أغلفتها بدون أن يؤثر ذلك على حيويتها أو معدل نموها . وفى بعض الأنواع الأخرى فإن تكوين طبقة الغلاف يتحدد بعوامل بيئية معينة . ومن البكتيريات التى تكون مواد غلاف تذوب فى البيئة لتزيد من لزوجة المزرعة النامية بها تلك التى تنمو على بيئة السكروز مكونة لمواد عديدة السكر يعرف بالدكستران dextran ( عديد



شكل ١٢ : الغلاف البكتيري : الصورة العليا لخلايا مغلفة عصوية (عن Nester et al. 1978) والصورة السفلى خلايا كروية مغلفة (عن Levey et al. 1973) .

الجلوكوز Polglucoses ) أو يعرف بالليفان Levans ( عديد الفركتوز Polyfructoses ) وعديدات التسكر هذه قد تتخلق فقط من السكر وزوليس من غيره من السكريات ومن أمثلة ذلك ، البكتريا *Leuconostoc mesenteroides* التي تنمو مكونة مستعمرات صغيرة في وجود الجلوكوز ومستعمرات مخاطية كبيرة نتيجة لتكوين طبقة الغلاف في وجود السكر . وقد يتحول عصير قصب السكر عند صناعة السكر إلى مواد هلامية عديمة القيمة عند تلوثه بالبكتريا *Leuconostoc dextranicum* مسببة خسائر باهظة نتيجة لإفرازها مواد غلافية عبارة عن ديكسترانز .

وينعكس وجود أو غياب طبقة الغلاف على الشكل الظاهري أى على مظهر المستعمرات على البيئات الصلبة ( شكل ١٣ ) . فمستعمرات البكتريا التي تتخلق الغلاف تكون ذات مظهر رطب لامع هلامي وتسمى هذه المستعمرات بالمستعمرات الناعمة (S) Smooth ، أما في حالة غياب الغلاف فإن المستعمرات الناتجة تظهر بشكل غير لامع غير مرتفع عن سطح الاجار تعرف بالمستعمرات الخشنة (R) Rough . وقد تكون طبقة الغلاف كبيرة فتتكون مستعمرات مخاطية (M) Mucoid . وقد توجد درجات متوسطة الخشونة والنعومة بين R و S تسمى بالحالات الوسيطة (I) Intermediate . ووجود الغلاف له تأثير واضح على مظهر النمو في البيئات السائلة أيضاً فالمزارع الناعمة يتميز نموها في البيئات السائلة بتكوين معلق بكتيري ثابت stable لا يترسب ولا يطفو على السطح في حين أن المزارع الخشنة والمجعدة تترسب عند نموها في البيئات السائلة أو قد تطفو على سطح البيئة مكونة لغشاء سطحي أو مكونة لغشاء حلقى ملاصق لسطح الوعاء المحتوى على المزرعة .

وأحياناً يكون وجود طبقة الغلاف مرتبطاً بالقدرة المرضية virulence



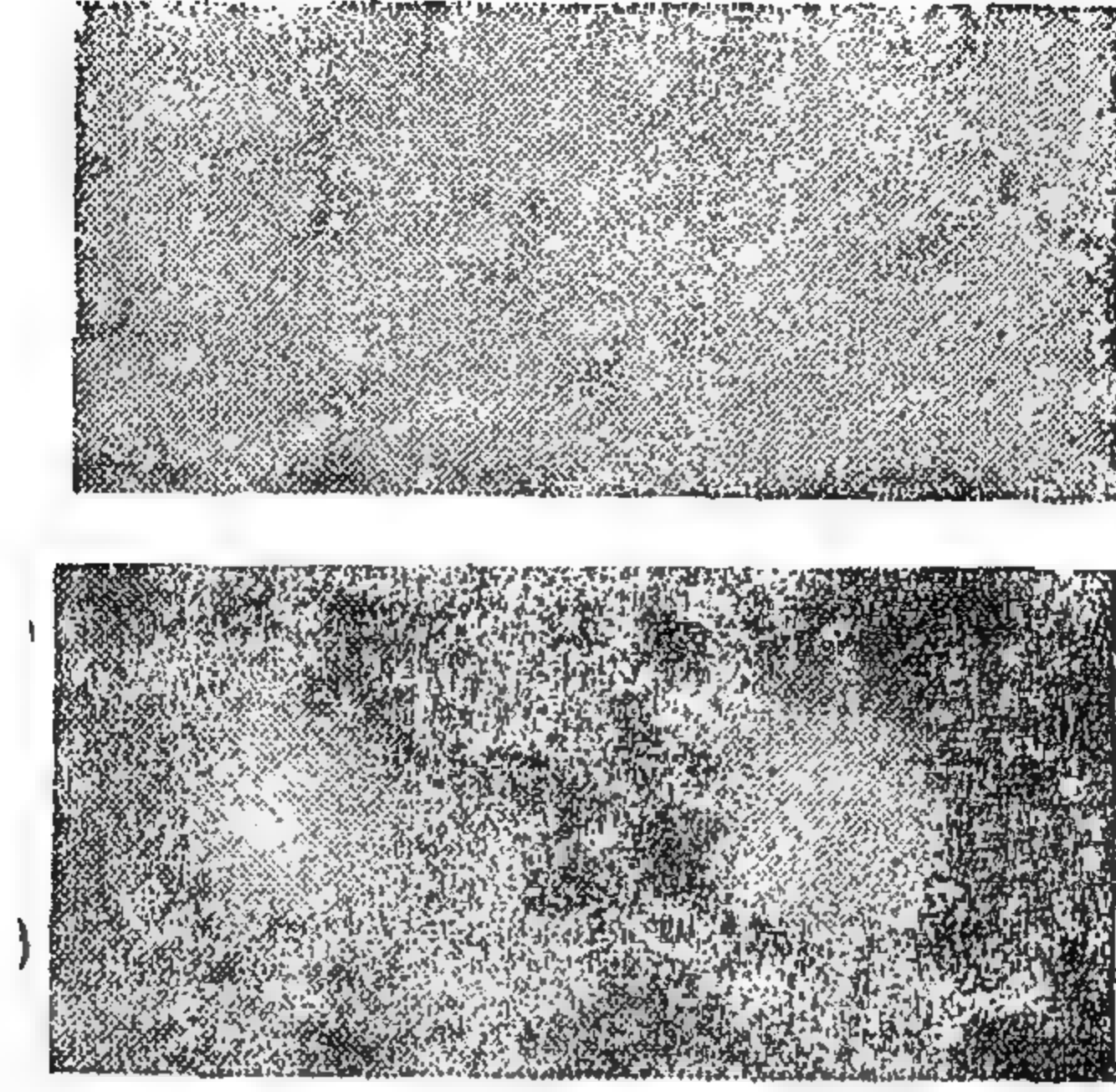
جدول ٢ : التركيب الكيماوى لطبقة الغلاف فى بعض الأنواع البكتيرية المختلفة

اسم البكتيريا	طبيعة الغلاف	الوحدة الكيماوية
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	دكستران	جلوكوز
<i>Streptococcus salivarius</i>	ليفان	فركتوز
<i>Acetobacter aceti</i> sub sp. <i>xylinum</i>	سيلليواوز	جلوكوز
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	أنواع مختلفة من عديدات التسكر حسب الطراز :	
طراز رقم ٢	polymer of glucose	جلوكوز
طراز رقم ٣	جلوكوز مع حمض جلوكيورونيك مرتبطين بالرابطة ١ ٤ لتعطى 4-β glucuronosidoglu- cose Cellobiuronic acid	أو
طراز رقم ٦	عديد التسكر	جالاكتوز ، جلوكوز ورامنوز
طراز رقم ١٢	عديه التسكر	جالاكتوز . جلوكوز N-acetylglucos- amine
طراز رقم ١٨ <i>Aerobacter aerogenes</i>	عديد التسكر عديد التسكر	رامنوز ، جلوكوز fucose وجلوكوز و glucuronic acid,
<i>Bacillus anthracis</i>	عديد الببتيد	حمض الجلو تامينك
<i>Bacillus megaterium</i> Strain M	عديد الببتيد وعديدات التسكر	

للبكتيريا ، فمثلا في حالة البكتيريا *Streptococcus pneumoniae* التي تسبب الالتهاب الرئوى فإن المستعمرات الناعمة (S) تكون قادرة على إحداث العدوى أما المستعمرات الخشنة (R) من نفس النوع البكتيرى فلا تكون قادرة على إحداث المرض حيث أن الخلايا غير المغلفة يسهل التخلص منها بواسطة النظام الدفاعى فى جسم الحيوان Phagocytes أكثر من الخلايا المغلفة . أو بمعنى آخر طبقة الغلاف تحمى الخلية البكتيرية من النظام الدفاعى بداخل جسم العائل .

وأيضاً فى حالة البكتيريا الممرضة للنباتات فهناك بعض أمثلة تدل على أن مادة الغلاف ضرورية لمرضية البكتيريا . ففى حالة البكتيريا *Pseudomonas solanacearum* المسببة للعفن البنى فى البطاطس والذبول فى عديد من العوائل النباتية فإن السلالات غير الممرضة لا تحتوى على طبقة الغلاف أما السلالات الممرضة فهي تفرز الغلاف المكون من عديدات السكر والذي يسبب لزوجة السوائل وإعاقة حركتها بداخل الأوعية الخشبية المصابة مسبباً أعراض الذبول . علاوة على أن إفراز مادة الغلاف هذه بأنسجة النبات العائل قد يؤدي إلى تأثير سام phytotoxic للنبات العائل.

وقد ثبت أن الغلاف ضرورى أيضاً لمرضية البكتيريا *Streptococcus mutans* وهى الكائن الأساسى الذى يسبب تسوس الأسنان فى الإنسان والتي تتطلب وجود طبقة الغلاف فى كتل كبيرة كأحد مكونات plaque على سطح الأسنان لتتمكن البكتيريا من تحليل مادة الأسنان ، وهذا الالتصاق يتطلب غالباً وجود غلاف من الجلوكان glucan والفروكتان fructan والذي يخلق بطريقة تخصصية من السكريوز وليس من أى سكريات أخرى. وبالرغم من أن هذه البكتيريا تستطيع التكاثف فى غياب السكريوز إلا أن وجود السكريوز فى الغذاء يساعدها على بناء الغلاف وبالتالي تلتصق بالأسنان وتسبب التسوس .



شكل ١٣ : صورتان لأشكال مستعمرات بكتيرية نامية على بيئة صلبة — بالصورة العليا مستعمرات ناعمة ولامعة للبكتيريا *Neisseria gonorrhoeae* وبالصورة السفلى مستعمرات خشنة للبكتيريا *Bacillus anthracis* (عن Burrows 1973)

ولا توجد أدلة واضحة تبين ما هي القوى أو الروابط التي تمسك الغلاف في وضعه حول الخلية ويقترح البعض أن بعض مواد من الجدار قد تبرز للخارج لتكون روابط كيميائية تعاونية Covalent bonds قد تربط هذه الأجزاء البارزة مع سواد الغلاف الحقيقي .

## ٢ — الجدار الخلوى Cell Wall

للجدار الخلوى أهمية كبيرة للخلية البكتيرية وقد تمت عليه دراسات عديدة لما يتمتع به هذا التركيب من أهمية خاصة منها :

- أنه يحتوى على مكونات كيميائية لا توجد في أى مكان آخر في الطبيعة .
- يمكن لتحضيرات نقية من الجدار الخلوى لبعض الكائنات أن تنتج أعراضا مرضية .
- كثير من المضادات الحيوية يكون تأثيرها مركزا على بناء الجدار الخلوى .

— الاختلاف في التركيب الكيماوى للجدر الخلوية للخلايا الموجبة والسالبة لصبغة جرام .

والجدار الخلوى البكتيرى تركيب صلب يعطى الخلية شكلها المميز بالرغم من ضآلة سمكه الذى لا يزيد عن ١٠ nm\* في البكتيريات السالبة للجرام ويتراوح بين ٢٠ — ٨٠ nm\* في الموجبة لجرام . ويمثل الجدار الخلوى في البكتيريا عموما ما يقرب من ٢٠ ٪ من الوزن الجاف للخلية بأكملها . وتبعاً لتفاعل الخلايا مع بعض الصبغات ، أمكن تجميع البكتيريا بوجه عام في مجموعتين أساسيتين الأولى هي البكتيريات الموجبة لجرام Gram positive والثانية البكتيريات السالبة لجرام Gram negative . وهذا التقسيم يعتمد على قابلية الخلايا للاحتفاظ بالصبغة القاعدية الكريستال البنفسجى عندما تغسل بالكحول من عدمه ( راجع الجزء العملى ) . ويعتقد أن ذلك لا بد وأن يعكس بعض الاختلاف في كيمياء الطبقات الخارجية من هذه الخلايا . وعموما فقد لوحظ بعض الفروق في التركيب الكيماوى بين جدر البكتيريات السالبة لجرام وجدر البكتيريات الموجبة لها . فجدر البكتيريات السالبة لصبغة جرام تحتوى على نسبة عالية من الدهون تقدر بما يتراوح بين ١١ — ٢٢ ٪ من الوزن الجاف للجدار نفسه ويحتوى على سكريات أمينية بنسبة منخفضة تتراوح بين ٢ — ٨ ٪ من الوزن الجاف للجدار وتحتوى على كل الأحماض الأمينية التى قد توجد في البروتينات . أما جدر البكتيريات الموجبة لجرام فلا تشتمل على دهون أو قد تحتوى على نسبة قليلة منها ( صفر — ٣ ٪ ) وتحتوى على نسبة عالية من السكريات الأمينية ( ١٥ — ٢٢ ٪ ) وعلى عدد محدود من الأحماض الأمينية . وعند إزالة الجدار الخلوى من على سطح الخلية بأى طريقة من الطرق فإنه



يلاحظ أن الغشاء البروتوبلاستي وهو غشاء شبه منفذ يقع تحت الجدار مباشرة يمكنه أن يحمي الخلية من القوى الاسموزية وبذلك يمكن للبروتوبلاست العارى الذى يتخذ الشكل الدائرى باستمرار أن يواصل نموه وعلى ذلك فإن الجدار ما هو إلا هيكل صلب يعطى للخلية شكلها التى تشاهد عليه كما يحوى بداخله المواد البروتوبلازمية ليحميها من التأثيرات الخارجية .

### صبغة جرام Gram stain

من أهم طرق الصبغ المركب أو الصبغ التفريقى للبكتيريات الحقيقية . وأول من استعمل هذه الطريقة طبيب دانمركى كان يعمل فى برلين يدعى Christian Gram ( ١٨٨٤ ) ، قابله مشكلة التفريق بين البكتيريا التى تسبب الالتهاب الرئوى وبين النويات فى أنسجة الثدييات المصابة أو بمعنى آخر كان يبحث عن طريقة يصبغ بها خلايا البكتيريا دون أن تصبغ بها أنوية الأنسجة الحيوانية . فقد لاحظ أن بعض البكتيريا لم تحتفظ بالصبغة ولكن هذا الفشل كان هو الأساس فى إيجاد طريقة هامة للصبغ التفريقى يفرق بها بين البكتيريات المختلفة عرفت فيما بعد بتفاعل جرام .

وللحصول على نتائج حقيقية عن تفاعل جرام يجب أن تكون المزرعة حديثة النمو عند إجراء الصبغ . وتتلخص هذه الطريقة فى تجهيز غشاء بكتيرى ثم صبغه بمحلول من الكريستال البنفسجى ثم باليود ثم الغسيل بالكحول فتغسل الصبغة البنفسجية من البكتيريات السالبة لجرام ولا تغسل فى الموجبة لجرام : ولتسهيل رؤية الخلايا فى الخلايا التى غسلت منها الصبغة تستعمل صبغة أخرى عكسية Counter stain حمراء اللون مثل السفوانين Safranin .

وقد يرجع الاختلاف بين البكتيريا الموجبة والسالبة لهذا التفاعل إلى أن سطوح الخلايا الموجبة لجرام أو الجزء القريب

ن السطح يحتوى على ملح المغنسيوم الحامض الريبونيوكلريك Ribonucleic acid . وهذا يكون مع كل من البروتين الخلوى وصبغة الكريستال البنفسجى واليود مركب معقد بنفسجى اللون يثبت فى الخلية ولا يذوب فى الكحول فتصبح الصبغة مقاومة للإزالة عند الغسيل بالكحول ، أما البكتيريا السالبة لصبغة جرام فإن التركيب الكيماوى لسطح خلاياها لا يحتوى على الملح المغنسيومى لحمض الريبونيوكلريك وبالتالى لا تكون المركب المعقد المذكور فيسهل غسيل الصبغة منه بالكحول . ويلاحظ أن بعض المزارع الموجبة لجرام قد تفقد إيجابيتها وذلك لبعض الأسباب التالية :

- ١ - عندما تتقدم الخلايا فى العمر .
- ٢ - عند ارتفاع حموضة البيئة .
- ٣ - عند المعاملة بأنزيم Ribonuclease
- ٤ - إذا سحقت الخلايا الموجبة لجرام مع برادة الزجاج لتكسير جدرانها فإن بقايا الخلايا المهشمة تفقد إيجابيتها لجرام .

وللجدار الخلوى دورا واضحا فى تفاعل جرام فإن جدار بعض الخلايا الموجبة لجرام يمكن أن تذاب تماما بواسطة أنزيم الليزوزايم Lysozyme ، فإذا صبغت مثل هذه الخلايا بصبغة جرام ثم عوملت بالأنزيم فإن البروتوبلاست ( الخلية العارية من الجدار ) تحتفظ بالصبغة ، مما يدل على أن الخلية نفسها وليس الجدار هو مكان تفاعل جرام ، فى حين أنه يمكن أن يزال اللون من البروتوبلازم عن طريق الغسيل بالكحول ، مما يدل على أن جدار الخلايا الموجبة لجرام يرتبط بالبروتوبلاست بطريقة تجعله يعمل حاجزا Barrier يمنع غسيل معقد الصبغة Dye complex من الخلية ومما يؤيد هذا التفسير أيضا أن الخلايا الموجبة لجرام فى بعض الأحيان تصبح

سالبة لحرام في المزارع الكبيرة السن لكثرة إفراز الإنزيمات التي تحدث ضرر للجدر الخلوية وهذا الضرر يغير من نفاذية الجدار الخلوي وبالتالي تذوب ويغسل معقد الصبغة بالكحول ويؤيد هذا التفسير أيضاً أن استعمال المذيب (الكحول) لمدة طويلة جداً عند إجراء الصبغ يحول الخلايا الموجبة إلى سالبة .

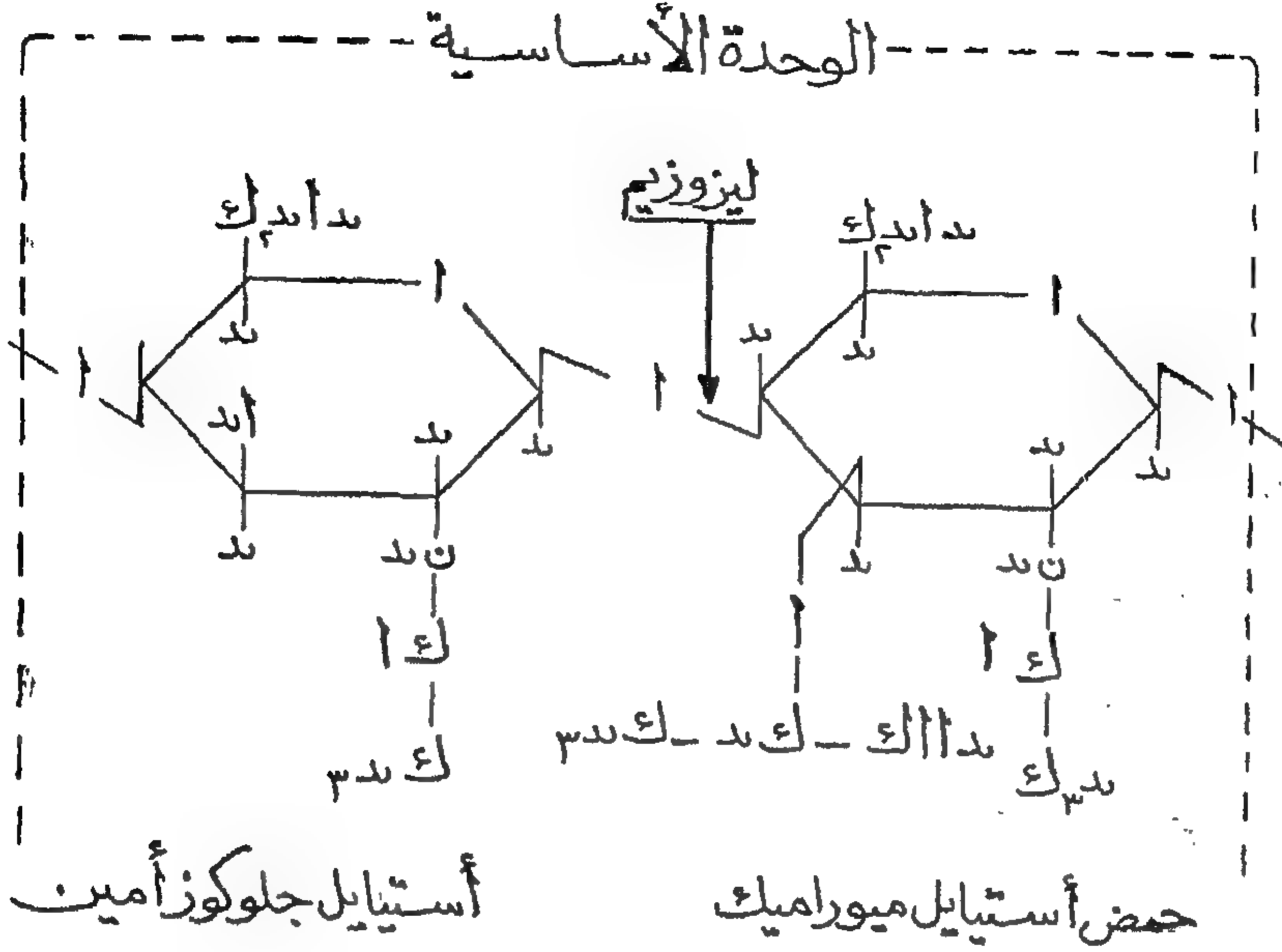
### التركيب الكيماوي للجدار الخلوي

إن التركيب الكيماوي المميز للجدار الخلوي البكتيري هو المشلول عن صلابتها فلهيكل الأساسي للجدار الخلوي البكتيري يتكون من الميوكوببتيد mucopeptide والذي يطلق عليه أيضاً اسم ميورين murein أو peptidoglycan أو mucopolysaccharide أو glycopeptide أو glucosaminopeptide . وأن نسبة هذه المادة في الجدار تتراوح بين ٥٠ - ٨٠ ٪ في معظم البكتيريا الموجبة لحرام ومن ١ - ٥ ٪ في البكتيريا السالبة لحرام كما أنه لا يوجد إطلاقاً في البكتيريا المحبة للملوحة halophilic bacteria . وأن الميوكوببتيد المحضر والمفحوص من كل المصادر يتسوى على نوعين من السكريات الأمينية ألا وهما حمض الاستيايل ميوراميك N - acetylmuramic acid والاستيايل جلوكوز أمين N - acetylglucosamine مع وجود عدد محدود من الأحماض الأمينية في روابط ببتيدية وهي د ، ل الانين D and L - alanine و د - حمض الجلوتاميك D - glutamic acid .

وحمض داي ادينوبيميلاك Diaminopimelic acid أو ليسين L - Lysine (شكلي ١٤ و ١٥) ويعتقد حالياً أن تركيب الميوكوببتيد ما هو إلا سلسلتين من السكريات الأمينية كل منهما تتكون من الاستيايل جلوكوز أمين بالتبادل مع الاستيايل ميوراميك وهاتين السلسلتين (هي في الواقع سلاسل من عديدات السكر) قد تتصلان عرضياً بواسطة سلسلتين قصيرتين من





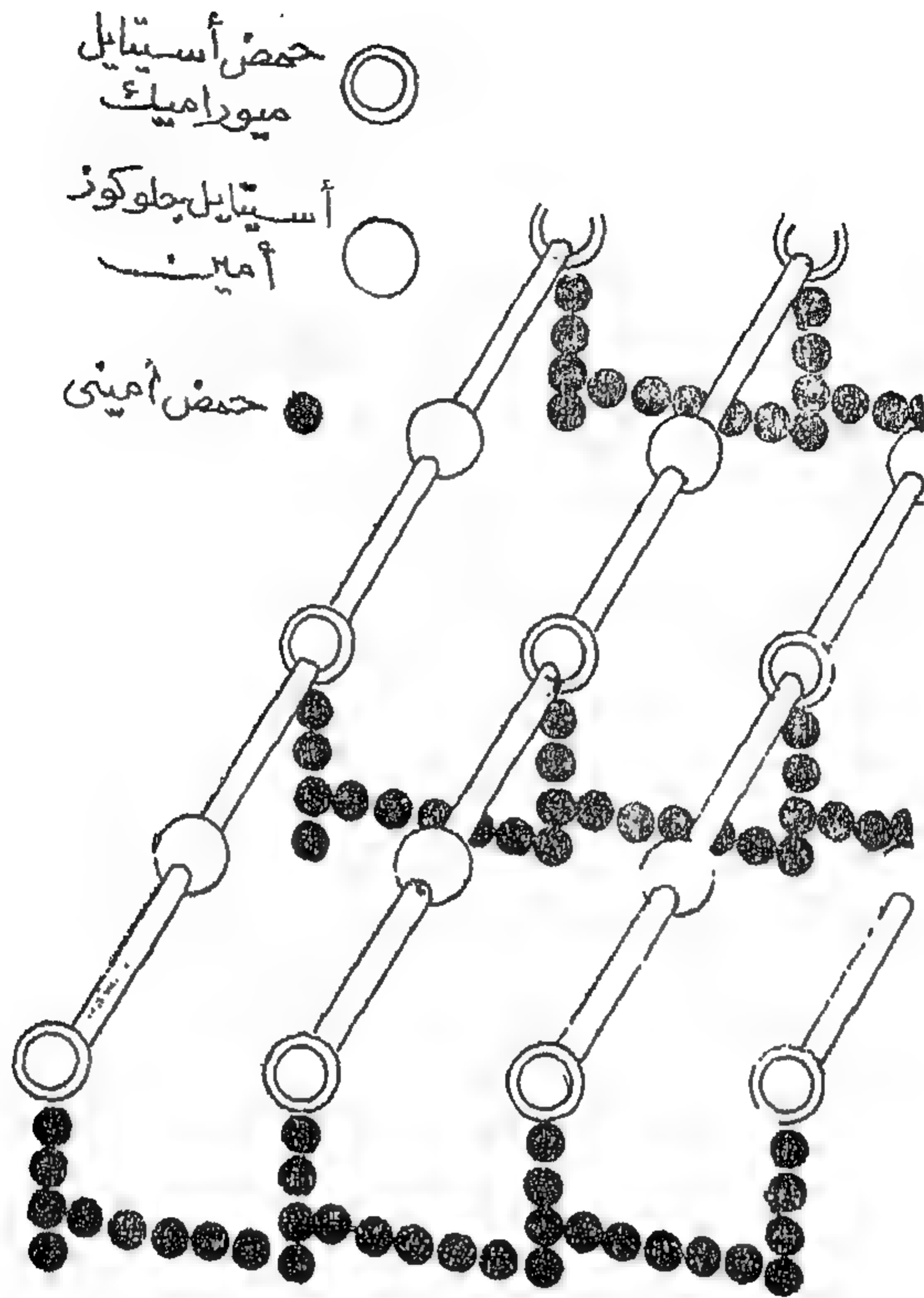


شكل ١٥ : التركيب الكيماوى للوحدة الأساسية Basic unit التى يتكون منها الميوكوبيتيد .

قبل دراسة الجدار الخلوية البكتيرية كىاوىا يجب أولا عزلها وتخليصها من المكونات الأخرى للخلية. والطريقة المتبعة فى ذلك عادة هى التحطيم الميكانيكى للخلايا ، ثم يتبع ذلك معاملات متعددة من الطرد المركزى التفريقى . وأن طريقة التحطيم المستعملة تؤثر على الحجم النهائى للأجزاء المكسورة ( الشظيات ) فإن الرج الميكانيكى مع حبيبات زجاجية دقيقة قد تؤدي إلى حدوث كسر واحد فى الجدار وبالتالي إنتاج شظيات كبيرة نسبيا فى حين أن الذبذبات الصوتية Sonic oscillation تنتج شظيات أصغر حجما لتعدد الكسور فى الجدار الخلوى .

ومن المعروف أن الميوكوبيتيدات المكونة للجدار الخلوية غير ذائبة فى حين أن معظم إن لم يكن كل المكونات الخلوية الأخرى يمكن استخلاصها من الخلية وبالتالي فإن الأساس الكيماوى لعزل الميوكوبيتيد تتلخص فى





شكل ١٧ : التركيب الجزيئي للميكوبكتيد .

الاستعانة بالمذيبات لإذابة الدهون والأحماض النووية والبروتينات من الخلية وبذلك تترك هذه المذيبات خلفها الميكوبكتيد النقي وهذه الطريقة بسيطة نسبياً وتستخدم كثيراً في التحليلات الكيماوية للعينات الصغيرة .

وفيما يلي وصفاً للتركيب الكيماوي للجدار الخلوي للبكتيريا الموجبة والسالبة لجرام .

#### أ - البكتيريا الموجبة لجرام

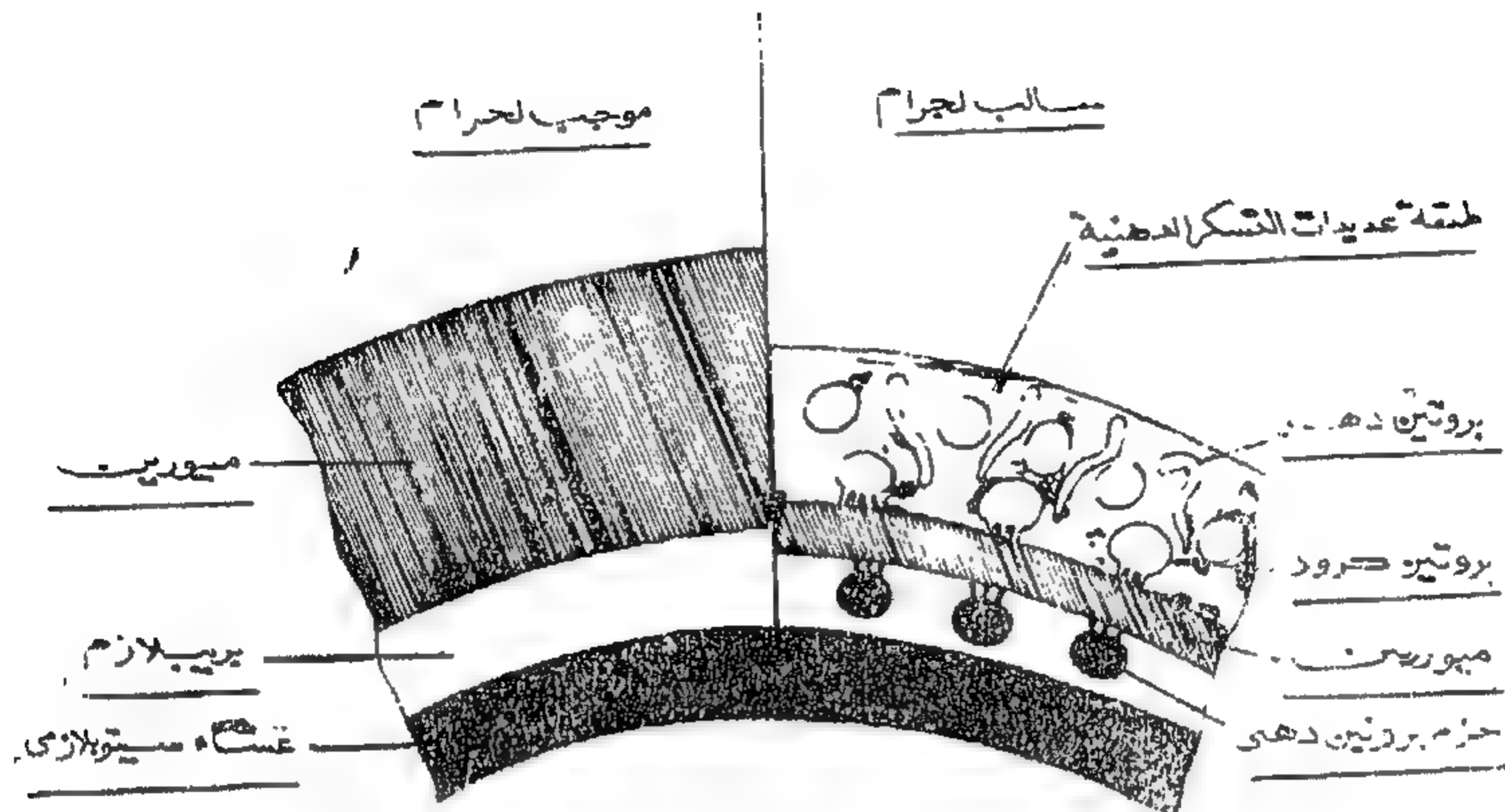
معظم الجدر الخلوية للبكتيرياات لصبغة جرام عبارة عن طبقات من

الميوكوبيتيد ( الميورين ) وتتصل كل طبقة بالتي أعلى منها والتي أسفل أسفل منها بواسطة سلاسل قصيرة من عديدات الببتيد وبذلك يتكون تركيب قوى وصلب . وقد لوحظ أن طبقات الميورين أو الميوكوبيتيد في البكتيريا الموجبة لجرام متجانسة وعادة أكثر سمكا من طبقات الميورين المكونة للبكتيريا السالبة لجرام ( شكل ١٨ ) . وعادة لا تحتوي جدر البكتيريا الموجبة لجرام على طبقات من البروتينات الدهنية lipoproteins أو عديدات السكر الدهنية Lipopolysaccharides إلا أن معظم جدر البكتيريا الموجبة لجرام تحتوي على مركب إضافي هو حمض التشويك Teichoic acid .

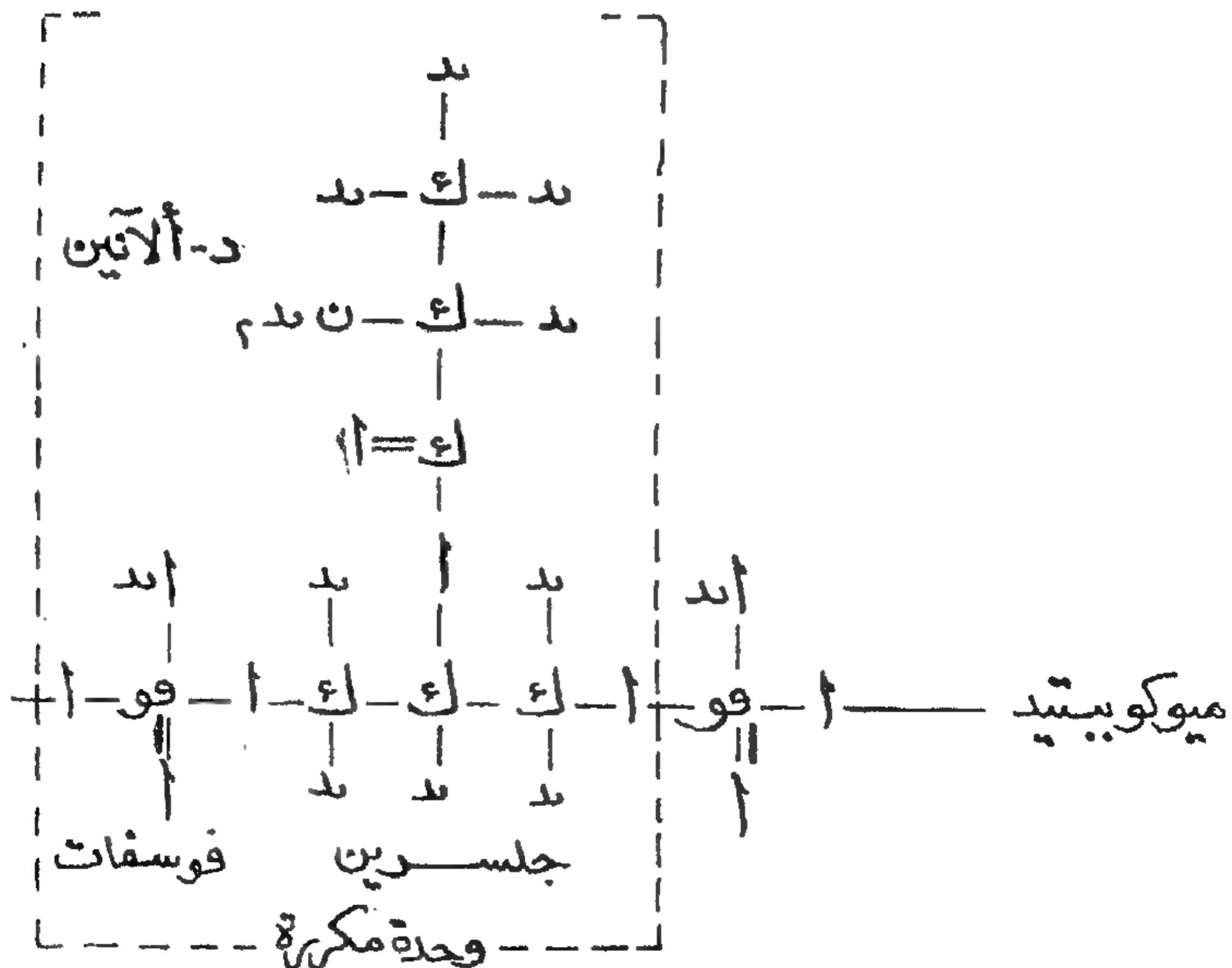
وهو عبارة عن تكرار لوحدات من الجليسرول مرتبطة بال D - alanine والفوسفات ( شكل ١٩ ) وقد يتكون أيضاً من تكرار وحدات من الريبيتول Ribitol ترتبط مع الجلوكوز ود - الانين . وحمض التشويك Teichoic acid يرتبط بروابط تعاونية covalent bonds مع طبقات الميورين سالفة الذكر . ويعتبر حمض التشويك عامل غير مهم لصلابة الجدار الخلوى البكتيرى وقد أظهرت نتائج فحص قطاعات رقيقة من الجدر الخلوية للبكتيريا الموجبة لجرام بالميكروسكوب الالكترونى عدم وجود طبقة منفصلة من هذا الحمض وعلى ذلك فإن هذا الحمض يكون داخلا في تركيب طبقات الميورين المكونة للجدار وليس منفصلا عنها .

وعندما يحدث نمو غير متوازن في البكتيريا الموجبة لجرام عن طريق استعمال مواد مثبطة لتخليق البروتين ، فإن بناء الجدار سوف يستمر على معدل عال إلا أن الانقسام قد يكون نادرا وبذلك فإن الجدر ستصبح أكثر سمكا مع الوقت .





شكل ١٨ : رسم تخطيطي لقطاع في الجدار الخلوى لبكتيريا سالبة لجرام وأخرى موجبة لجرام مبينا الفروق الأساسية في تركيب الجدار الخلوى ( عن Levy et al. 1973 )

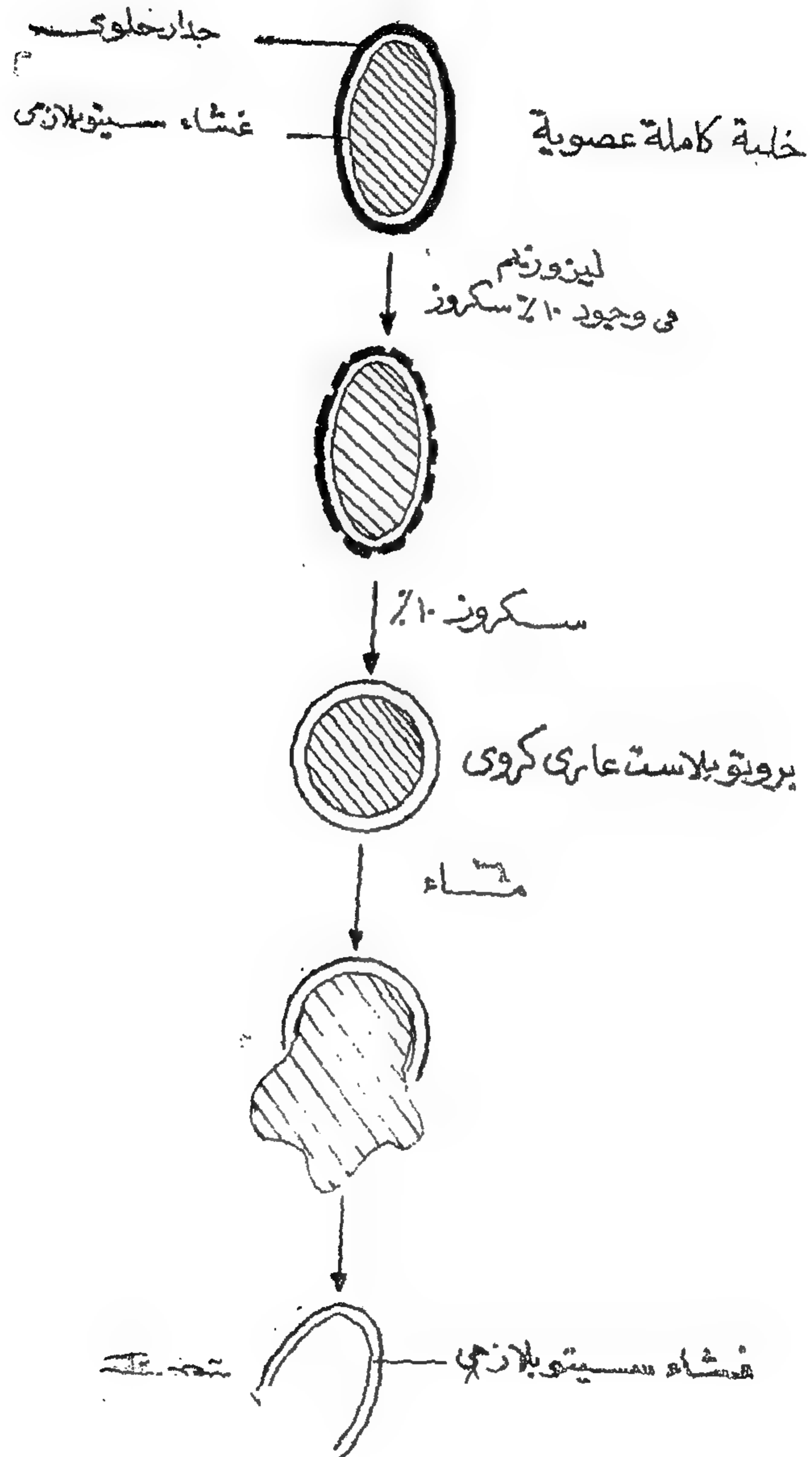


شكل ١٩ : التركيب الكيماوى للوحدة التى يتكون منها حمض التشويك Teichoic acid:

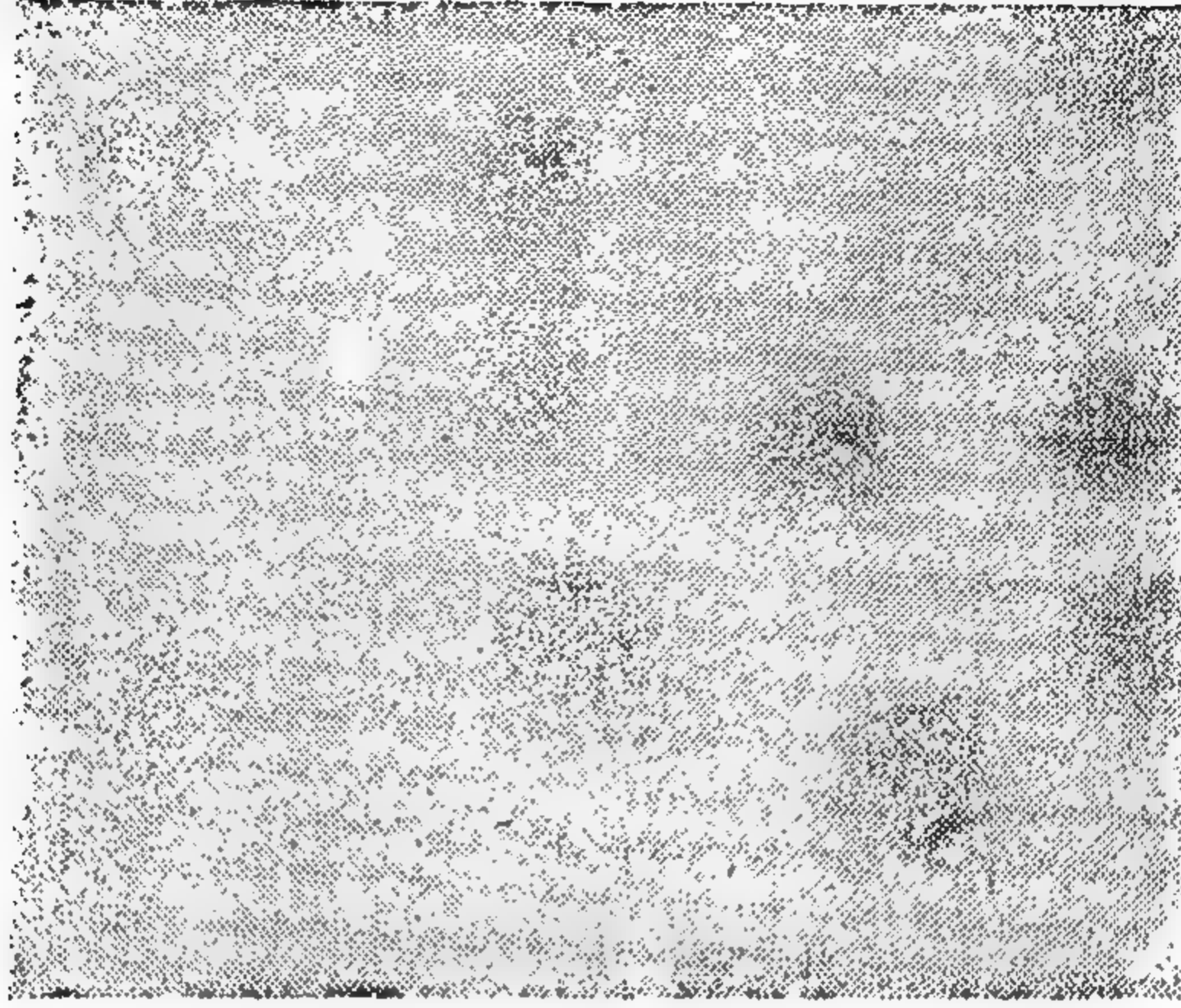
وهناك انزيم يمكن تحضيره من بياض البيض يعرف باسم اليزوزيم lysozyme يحلل الرابطة بيتا ١ - ٤ (  $\beta$  1 - 4 ) التي تربط بين الاسيتايل جلوكوز أمين وحمض الاسيتايل ميوارميك ( شكل ١٥ ) . وأن بكتيريا مثل *Bacillus megaterium* ، يمكن لجدرها أن تتحلل بواسطة هذا الانزيم إذا ما حفظت الخلايا في بيئة ذات ضغط أسموزي مرتفع *hipertonic medium* ، فتحت هذه الظروف يظهر البروتوبلاستات الخاصة بهذه البكتيريا نتيجة لإذابة الجدر الخلوي حيث يظل السيتوبلازم بها محاطا بالغشاء البروتوبلازمي أو البروتوبلاستي ويكون له شكل كروي حيث يعرف أيضاً باسم Spheroplast ( شكل ٢٠ وشكل ٢١ ) ويبدو أن هذه الأجسام قادرة على عمليات البناء الحيوي ويمكنها أن تنقسم ولكن لا ينفصل ناتج الانقسام حيث أنها لا تستطيع تكوين الجدار الخلوي . وهذا يوضح مدى أهمية الجدار لانقسام البكتيريا .

#### ب - البكتيريا السالبة لجرام .

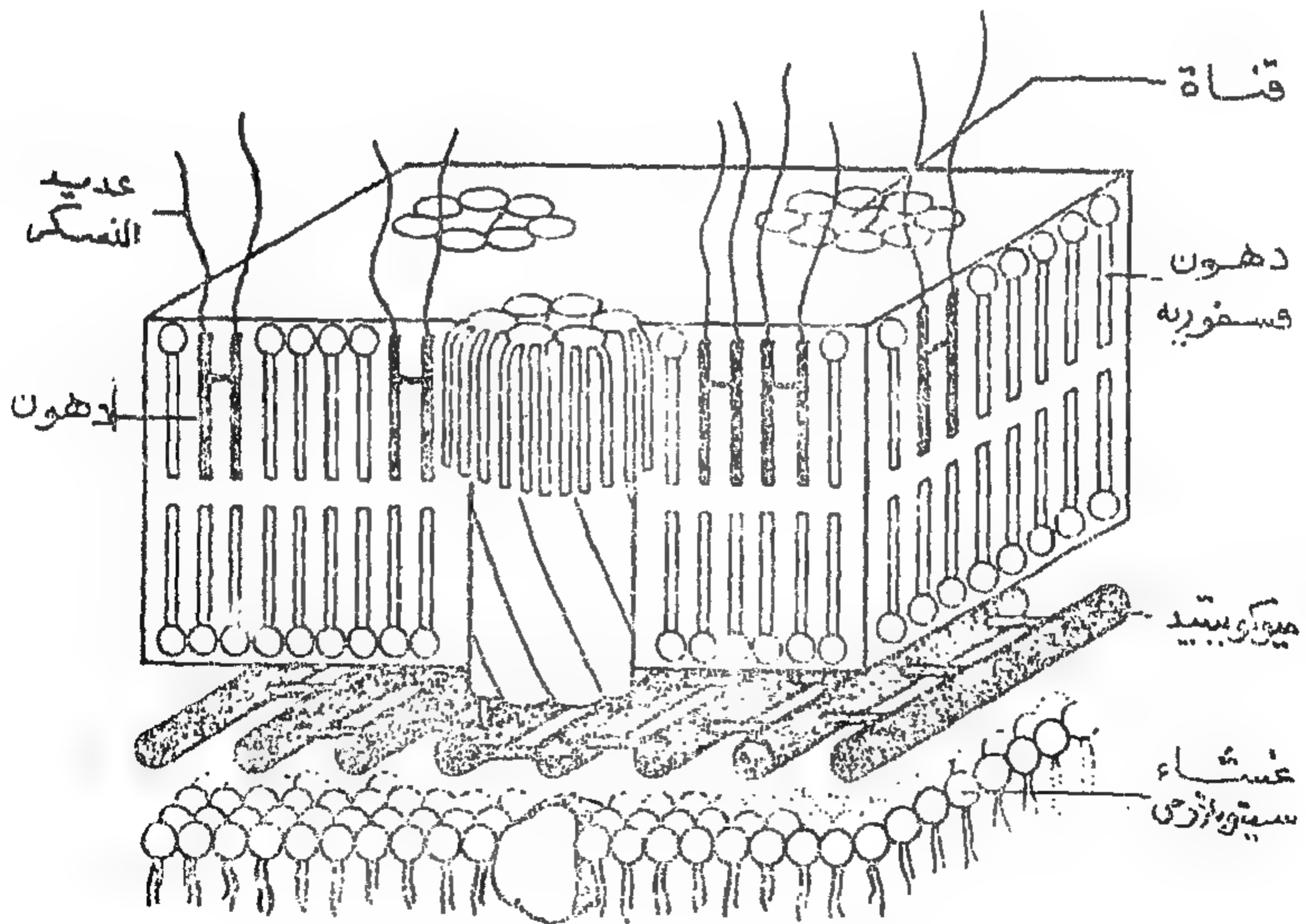
يحتوي الجدار الخلوي في البكتيرياات السالبة لجرام على طبقة واحدة من مادة الميورين ( الميوكوبيتيد ) فهي بذلك أقل سمكا من تلك الموجودة في جدر البكتيرياات الموجبة لجرام لذلك يسهل تحطيم جدر الخلايا السالبة لجرام عند استعمال الطرق الميكانيكية لتكسير الجدر الخلوية عنها في حالة جدر الخلايا الموجبة لجرام ( شكل ١٨ وشكل ٢٢ ) . كما أن مادة الميورين هذه تمثل ١٠ ٪ فقط من الوزن الجاف للجدار الخلوي في الخلايا السالبة لجرام والنوع البكتيري السالب لجرام والذي وجد أنه يحتوي على حمض *techoic acid* هي البكتيريا *Escherichia coli - B* . والكائنات البكتيرية السالبة لجرام تحتوي علاوة على ما تقدم على طبقه من البروتينات الدهنية *Lipoprotein* وعديدات السكر الدهنية *Lipopolysaccharide*



شكل ٢٠ : خطوات الحصول على بروتوبلاست عاري ثم طبقة الغشاء السيتوبلازمي .



شكل ٢١ : البروتوبلاستات العارية ذات الشكل الكروي للبكتيريا العصوية *Bacillus megaterium* الناتجة عن تحليل الجدار الخلوي ( $\times 4000$ ) (عن Burrows 1973)



شكل ٢٢ : رسم تخطيطي يبين التصور الحالي لتركيب الجدار الخلوي في البكتيريا السالبة الجرام (عن Nester et al 1978)



ودهنون فوسفورية phospholipids تحيط بطبقة الميورين الرقيقة. وطبقة عديدات التسكر الدهنية تغطي كل طبقة الميورين ويلاحظ ان هذا التركيب يحتاج الى ايونات الكالسيوم  $Ca^{++}$  لكي يظل ثابتا ومن هنا كانت إضافة المواد ذات الصفات ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) مثل chelating agents تأثيرا ضارا بهذه الطبقة. والبروتين الدهني Lipoprotein في الجدار الخلوي للبكتيريا السالبة لجرام لا يعطى أى قوة لجدرها الخلوية وقد لا يكون في صورة طبقة ولكنه يوجد في صورة مجموعة من الأنابيب الصغيرة تنتشر خلال طبقة عديدات التسكر الدهنية. وان طبقة البروتينات الدهنية لا ترتبط بروابط تعاونية covalent bonds مع الميورين او مع عديدات التسكر الدهنية ولكنها ترتبط بروابط هيدروجينية ضعيفة. وطبقة البروتينات الدهنية يمكن ازالتها بسهولة من الخلية بواسطة محلول ٩٠٪ من الفينول البارد حيث انها تذوب في هذا المحلول كما ان عديدات التسكر الدهنية يمكن ازالتها ايضا بهذه المعاملة ولكنها تظل غير ذائبة.

وجدر البكتيريا السالبة لجرام تعتبر غير حساسة لفعل اليزوزايم وقد يرجع ذلك الى أن طبقة الميورين تكون محمية بطبقة من عديدات التسكر الدهنية والبروتينات الدهنية. وقد تصبح الخلايا حساسة لليزوزايم إذا عوملت بالعوامل المخلبة مثل EDTA او بواسطة تعريض الخلايا الى التجميد والأساله المتوالى.

وفي بعض الأحيان عندما يحدث نمو غير متوازن في البكتيريا السالبة لجرام عن طريق استعمال مواد مثبطة لتخليق البروتين، فان الخلايا سوف تخلق كميات كبيرة من عديدات التسكر الدهنية والتي سوف تظهر بشكل نموات زائدة أو بثرات تعرف باسم blebs تشاهد على السطح الخارجى للخلية معطية لها مظهرا غير منتظم.

وقد لوحظ في كثير من البحوث أن لطبقة عديدات السكر الدهنية لبعض البكتيريا درجة واضحة من السمية تتأثر بها خلايا العائل ، فان كثيرا من البكتيريا الممرضة للانسان والنبات والسالبة لجرام تنتج مواد عبارة عن عديدات تسكر دهنية تعتبر سامة لجسم العائل ، وبذلك يمكنها احداث المرض . ولوحظ أيضا أن تخضيرات نقية من عديدات التسكر الدهنية معزولة من بكتيريا سالبة لجرام وممرضة يمكن ان تسبب نفس الاعراض المميزة للعدوى التي تنتج عن الخلية الكاملة .

ويعتقد الآن أن الجزء الدهني من عديدات التسكر الدهنية هو الحامل للسمية ويعتبر من السميات الداخلية endotoxins . وجدول ٣ يبين بعض الصفات الهامة وبعض الفروق الاساسية بين الجدر الخلوية في البكتيريا السالبة والموجبة لجرام .

### غياب الجدار الخلوى

بعض الكائنات الدقيقة قد لا تمتلك جدارا خلويا فمن المعروف أن مجموعة من الكائنات الدقيقة التي تسمى الميكوبلازومات Mycoplasma أو الكائنات الشبيهة بها والتي تتميز خلاياها بغياب الجدر الخلوية فهي تنمو ببطء وتحتاج الى بيئات غذائية خاصة تحتوى على ٢٠٪ من سیرم الدم . وبعض الميكوبلازومات تحتاج أيضا الى ستيرولات sterols في بيئة الزرع وهذه الاستيرولات تدخل في تركيب الغشاء السيتوبلازمى ويبدو ان الاستيرولات تقوم بعمل توازن وثبات وحفظ الغشاء السيتوبلازمى بطريقة غير معروفة لتمنع تحللها وفسادها .

وهناك مجموعة أخرى من الكائنات البكتيرية يطلق عليها ال L. form bacteria وهى كائنات تشبه الميكوبلازومات في عدم وجود جدر خلوية لخلاياها وقد سميت بذلك الاسم نسبة إلى معهد ليستر Lister Institute

جدول ٣ : الفروق الأساسية بين الجدر الخلوية في البكتيريا السالبة والموجبة لجرام .

الصفة	الموجبه لجرام	السالبة لجرام
التحلل بواسطة الليزوزيم	+	فقط بعد معاملات خاصة
عدد طبقات الجدار	١	٢
سمك الجدار	٢٠ — ٨٠ nm	١٠ nm
محتوى الجدار من الدهون	صفر — ٣%	١١ — ٢٢%
محتوى الجدار من السكريات		
الأمينية	١٠ — ٢٢%	٢ — ٨%
الميوكوبيتيد	+	+
Teichoic acid	+	(E. coli) ±
وجود أنواع متعددة من		
الأحماض الأمينية	—	+
Lipopolysaccharide	—	+
Lipoprotein	—	+

بلندن والتي وصفت فيه هذه الكائنات لأول مرة في ١٩٣٥ . وهذه عبارة عن بكتيريا سواء سالبة أو موجبة لجرام فقدت القدرة على بناء الميوزين في الجدار الخلوي سواء من الناحية الكمية أو النوعية . وفقدان هذه القدرة (أعني القدرة على تخليق الميوزين) يمكن ان تحدث تلقائيا داخل جسم العائل او خارج جسم العائل في بعض الحالات الاخرى ، ويلاحظ أن بعض البكتيريا العارية من الجدار تفشل في تخليق الميوزين ولكنها تستمر في تخليق عديدات السكر الدهنية والبروتينات الدهنية . ومثل هذه الكائنات التي لا تحتوي على جدار صلب تشترك في مجموعة من الصفات العامة فهي لا تتميز بشكل خلوي خاص

وهى بذلك خلايا رهيقة fragile تميل الى التكاثر ببطء وهى تعتبر مقاومة للمضادات الحيوية ، التى تؤدى فعلها عن طريق التدخل فى عملية بناء الجدار الخلوى مثل مجموعة البنسلين والباسترين Penicillin — Bacitracin group.

ومن المعروف أن البنسلين يؤثر على البكتيريا عن طريق التدخل فى عمليات تخليق الجدار الخلوى وخاصة طبقة الميورين وغالبا فان البنسلين يكون فعالا ضد البكتيريا الموجبة لجرام الغنية بطبقات الميورين عن البكتيريات السالبة لجرام (مع وجود حالات تشذ عن ذلك) ويبدو ان ذلك يرجع أيضا الى وجود طبقة عديدات التسكر الدهنية والبروتينات الدهنية التى تحيط بطبقة الميورين فى جدر الخلايا السالبة لجرام والتى تمنع البنسلين من الوصول الى موقع تأثيره وهو طبقة الميورين .

#### ١ — ثانيا : البروتوبلاست Protoplast

ان كل ما يقع بداخل الجدار الخلوى يعرف باسم البروتوبلاست وكما سبق أن بينا أنه يمكن عزل البروتوبلاست سليما وهو يشمل الاتى :

#### ١ — الغشاء السيتوبلازمى : Cytoplasmic membrane

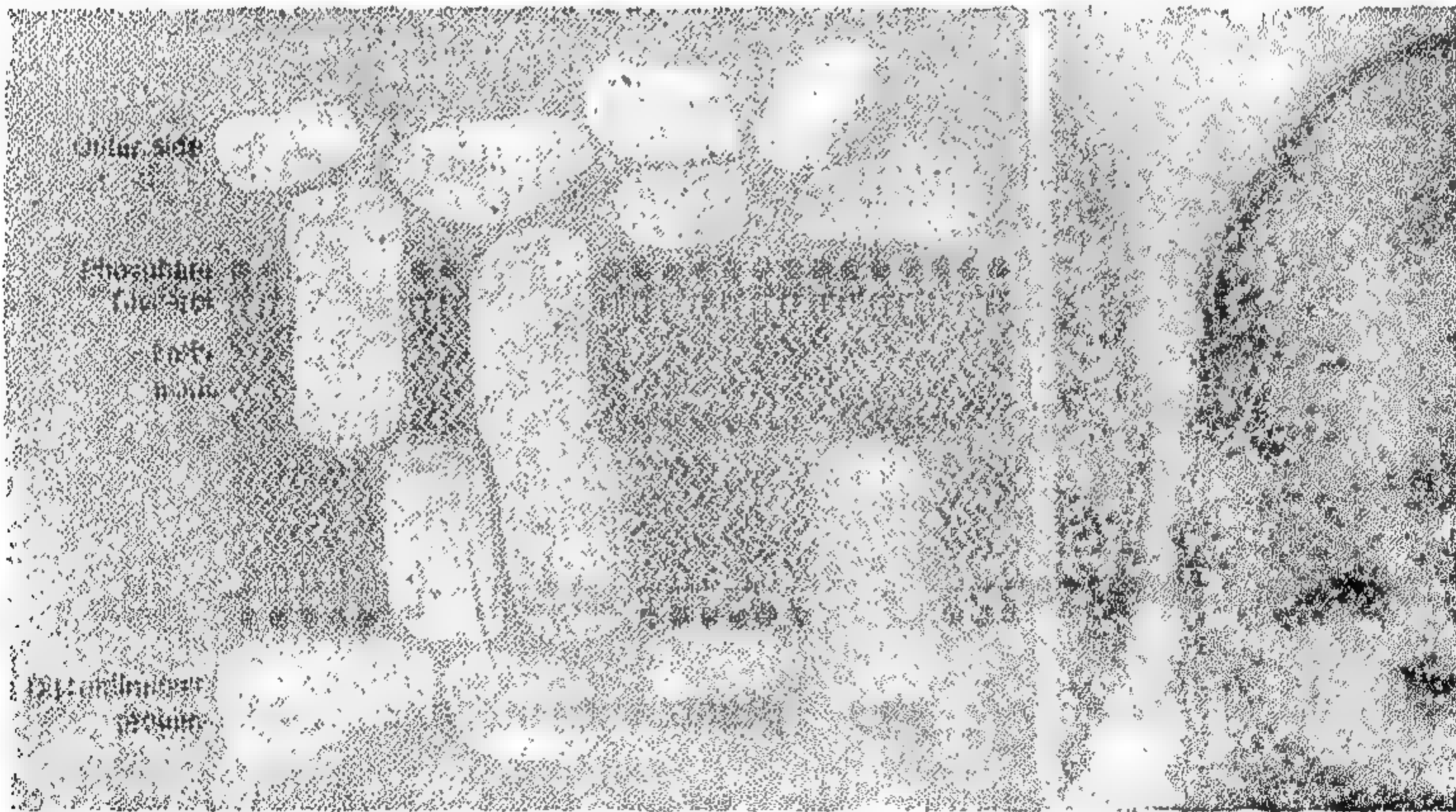
ويطلق عليه أيضا الغشاء البروتوبلازمى Protoplasmic membrane أو الغشاء البلازمى plasma membrane وهو يقع تحت الجدار مباشرة (شكل ٢٣) الا انه قد توجد احيانا منطقة بين الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى تسمى بريلازم periplasm . ويقدر سمك الغشاء السيتوبلازمى بحوالى ٥ nm ولا يشاهد بطرق الصبغ العادية ولكن يمكن إثبات وجوده إما عن طريق جعل المحتويات الخلوية تنكمش بعيدا عن الجدار ، او باستعمال طرق صبغ خاصة و كذلك باستعمال الميكروسكوب الالكترونى .

معظم الأغشية السيتوبلازمية المعزولة من البكتيريا تحتوى على ٦٠٪



بروتين و ٤٠٪ دهون تقريبا ومعظمها من الدهون الفوسفورية phospholipids ويمثل الغشاء السيتوبلازمى عادة ١٠٪ من الوزن الجاف للخلية .

الأغشية السيتوبلازمية سواء المعزولة من خلايا كائنات ذات نواه بدائية أو نواة حقيقية تتشابه كثيرا عند فحصها بالميكروسكوب الالىكترونى . فهى عبارة عن طبقتين غامقتين تفصلها طبقة خفيفة . وأن كثيرا من خواص هذه الأغشية تعتمد على وجود الفوسفوليبيدات فانها قابلة للذوبان فى الاطراف التى تحتوى على مجموعة الفوسفات وتكون غير قابلة للذوبان فى الماء خلال بقية الجزيء والذى يتكون معظمه من ذرات من الكربون والايديروجين وعلى ذلك فان كل المجاميع المحملة بالشحنات تكون بارزة للخارج وان المجاميع غير القابلة للذوبان فى الماء تكون بالداخل (شكل ٢٣) .



شكل ٢٣ : إلى اليمين : صورة إلكتروميكروسكوبية لقطاع رقيق جدا فى خلية بكتيرية توضح الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى .

إلى اليسار : رسم تخطيطى لتركيب الغشاء السيتوبلازمى . لاحظ أنه يتكون من بروتين غير

متصل : Discontinuous protein وجليسرين glycerol وفوسفات Phosphate وأحماض دهنية fatty acids . (عن Levey et al., 1973)

ونظرا لأن الأغشية المختلفة تقوم بوظائف فسيولوجية مختلفة ، فإنه يفترض وجود اختلافات بين الأغشية الأمر الذى يبرر قيامها بهذه الوظائف المختلفة. وهذه الاختلافات قد تحدث فى جزيئات البروتين والى توجد مطمورة فى طبقتى الفوسفوليبيدات .

وفى بعض الأحيان تظهر طبقات متعددة بالغشاء السيتوبلازمى بدرجة كبيرة فى البكتيريا التى تقوم بالتمثيل الضوئى أو التى تولد الطاقة على معدل مرتفع . هذه الطبقات تمد الكائن بسطح كبير جدا يسمح بنشاط انزيمى كبير .

والغشاء السيتوبلازمى يعتبر غشاء شبه منفذ Semipermeable وعادة يمكن للمواد ذات الوزن الجزيئى القليل نسبيا المرور خلاله الى داخل الخلية وعادة يفسر دخول المواد الى الخلية بالطريقتين التاليتين :

١ — الانتشار السلبى Passive diffusion : وفى هذه الطريقة فان انتشار الجزيئات من وإلى الخلية يستمر بحرية حسب تركيزها خارج او داخل الخلية دون ان تبذل الخلية طاقة فى ذلك ويستمر الانتشار حتى يحدث توازن بين تركيز جزيئات مادة ما بداخل وخارج الغشاء .

ب — النقل النشط active transport : تبذل الخلية طاقة معينة لنقل الجزيئات الى داخل او الى خارج الخلية . وعموما فان الخلية تنقل الجزيئات بدرجة اكبر الى الداخل عن ما يخرج منها الى الخارج وتكون النتيجة النهائية تراكم الجزيئات بداخل الخلية . وفى حالة النقل النشط فان تركيز مادة غذائية معينة يزداد بدرجة كبيرة بداخل الخلية عنه فى خارج الخلية وذلك لأن الخلية تبذل طاقة للاحتفاظ بالتركيز المرتفع بداخلها . ويوجد نظام انزيمى وظيفته نقل المواد الغذائية الى داخل الخلية ويسمى نظام النفاذية permease فى الاغشية السيتوبلازمية ويبدو أن هذا النظام يتكون من عدد من الإنزيمات المصاحبة للمحتوى البروتينى فى الغشاء ، وهذه الانزيمات تساعد فى سلسلة

من التفاعلات المتتالية ، وأن بعض هذه التفاعلات قد يحتاج الى الطاقة والبعض الآخر لا يحتاجها . وغالبا توجد انزيمات نفاذية متخصصة بكل مادة غذائية ، فمثلا هناك إنزيمات نفاذية متخصصة في نقل الجلوكوز وهذه تختلف عن انزيمات النفاذية التي تنقل اللاكتوز وفي بعض الأحيان فان انزيمات النفاذية الخاصة بالمادة الواحدة يمكنها ان تنقل عديد من المركبات ذات التركيب الكيماوى المتشابه .

ونظرا لأن البكتيريا تعيش في ظروف يكون تركيز كثير من المواد الغذائية التي تحتاجها منخفضا فان الانتشار الحر لن يكون كافيا لامتداد الخلية بالاحتياجات الغذائية التي تسمح بنمو سريع ، وعلى ذلك فالبكتيريا تتبع نظام النقل النشط تحت هذه الظروف لنقل وتكديس كثير من المواد الغذائية بداخلها .

وللبكتيريا وسائلها لاستعمال المركبات ذات الوزن الجزيئى الكبير والتي توجد في كثير من الأحيان في الوسط الذى تعيش فيه ومن الواضح أن جزيئات هذه المواد لا تستطيع الدخول خلال الجدار الخلوى أو الغشاء السيتوبلازمى . لذلك فمعظم البكتيريا تفرز انزيمات خارج جسمها لها القدرة على هدم هذه الجزيئات الكبيرة الى وحدات صغيرة والتي يمكن أن تنقل الى داخل الخلية بالاستعانة بأنواع معينة من انزيمات النفاذية . ومن أمثلة هذه المواد جزيئات البروتين فهي تهدم أولا الى احماض امينية بواسطة الانزيمات المحللة للبروتين . وكذلك جزيئات عديدات السكر التي تهدمها الانزيمات الى الوحدات الاساسية التي تتكون منها (سكريات أحادية) . وكثير من هذه الانزيمات تفرزها الخلية وتنقل الى خارج الخلية ثم تحدث التفاعل في البيئة وتسمى انزيمات خارجية extracellular enzymes

وفي بعض الأحيان فان هذه الانزيمات توجد في الفراغ البريبلازمى periplasmic space بين الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى وبذلك

فان الجزيئات الكبيرة تمر خلال ثقبوب pores في الجدار (شكل ٢٢) وتصبح ملامسة لهذه الانزيمات في الفراغ البريبللازمي حيث تنكسر الى جزيئات صغيرة ثم تنقل بعد ذلك خلال الغشاء السيتوبلازمي بفعل انزيمات النفاذية .

وعلى ذلك فالغشاء السيتوبلازمي غشاء شبه منفذ semipermeable له نفاذية اختيارية selective membrane يتحكم في مرور المواد الغذائية وكذلك نواتج النمو للخارج . وان أى ضرر لهذا الغشاء قد يؤدي الى موت الخلية حتى ولو كان التغير المرفولوجي في الغشاء لا يمكن الاستدلال عليه او التحقق من وجوده ميكروسكوبيا . وعندما يحدث تغير في الغشاء يفقد بذلك القدرة على التحكم في مرور المواد ويرتبك النظام الفسيولوجي للخلية نتيجة لفقد كثير من المواد الحيوية والى دخول بعض المواد السامة . وقد لوحظ زيادة بعض الانشطة الانزيمية في تحضيرات من الاغشية السيتوبلازمية عنها في باقى أجزاء البروتوبلازم مثل نظام السيتوكروم Cytochrome system ، وعديد من الانزيمات المزيلة للايدروجين Dehydrogenases وذلك فان تفاعلات الأكسدة البيولوجية بالخلية تتمركز في هذه الاغشية هذا علاوة على أن بعض الانزيمات المسؤولة عن تحطيم المواد الغذائية قد تكون مصاحبة أيضا لهذه الاغشية .

كما لوحظ ايضا أن من أهم الوظائف للغشاء السيتوبلازمي تخليق الجدار الخلوى حيث يحتوى على كل الانزيمات المسؤولة عن ذلك كما توجد بعض الأدلة على أن بالغشاء السيتوبلازمي بعض المواقع المعينة تلعب دورا هاما في انقسام الخلية ، فقد لوحظ ان بعض الطفرات البكتيرية التى تفقد القدرة على تخليق بروتين معين في الغشاء السيتوبلازمي تفشل دائما في الانقسام .

## ٢ - الميزوسومات Mesosomes

عبارة عن تركيبات غشائية يطلق عليها عدة أسماء أخرى منها peripheral



bodies أو Chondrioides وتوجد في معظم البكتيريا الموجبة لصبغة جرام وقليل من البكتيريا السالبة لصبغة جرام والأغشية المحيطة بهذه التركيبات غالبا امتدادات من الغشاء البروتوبلاستي وليست أغشية مستقلة (شكل ١٠) . وتوجد هذه الاجسام في البكتيريا الموجبة لصبغة جرام بالقرب من المنطقة النووية أو عند مكان انقسام الخلية . وإذا وجدت هذه التركيبات في البكتيريا السالبة لجرام فانها تكون غير واضحة . ويعتقد أن الوظائف أو الوظيفة التي تقوم بها هذه التركيبات للخلية تكون واحدة أو أكثر مما يلي :

- ١ - تعمل كموضع لتنفس الخلية ونتاج الطاقة .
- ٢ - لها دور خاص في تكوين الجدار العرضي في البكتيريا الموجبة لجرام .
- ٣ - تعمل كمركز للتحكم في الانقسام الخلوي المنظم .

ولا توجد أدلة قاطعة على التأكد من أن احد هذه الوظائف أو جميعها هي التي تؤديها للخلية الا ان وجودها بالقرب من المنطقة النووية أو عند مكان انقسام الخلية قد يدل على ان تكوين الحاجز العرضي يعتمد على وجود الميزوسومات Mesosomes . وقد ذكر بعض الباحثون ان ال DNA في الجسم النووي يبدو وانه مرتبط بالميزوسومات . مما يؤيد أنها تلعب دورا فعالا في انفصال ال DNA من الخلية الأم الى كل من الخليتين الناتجتين عن الانفلاق .

كما توجد أيضا بعض الأدلة على أنها مكان لتنفس الخلية وذلك لقدرتها على ترسيب مادة الفورمازان Formasans وهو الحالة المختزلة لمركبات التيترازوليم Tetrazolium عندما يضاف المركب الاخير للخلية وهي بذلك تشبه الميتوكوندريا التي تتميز بترسيب هذه المواد عند إضافة التترازوليم الى الخلايا المحتوية على ميتوكوندريا .

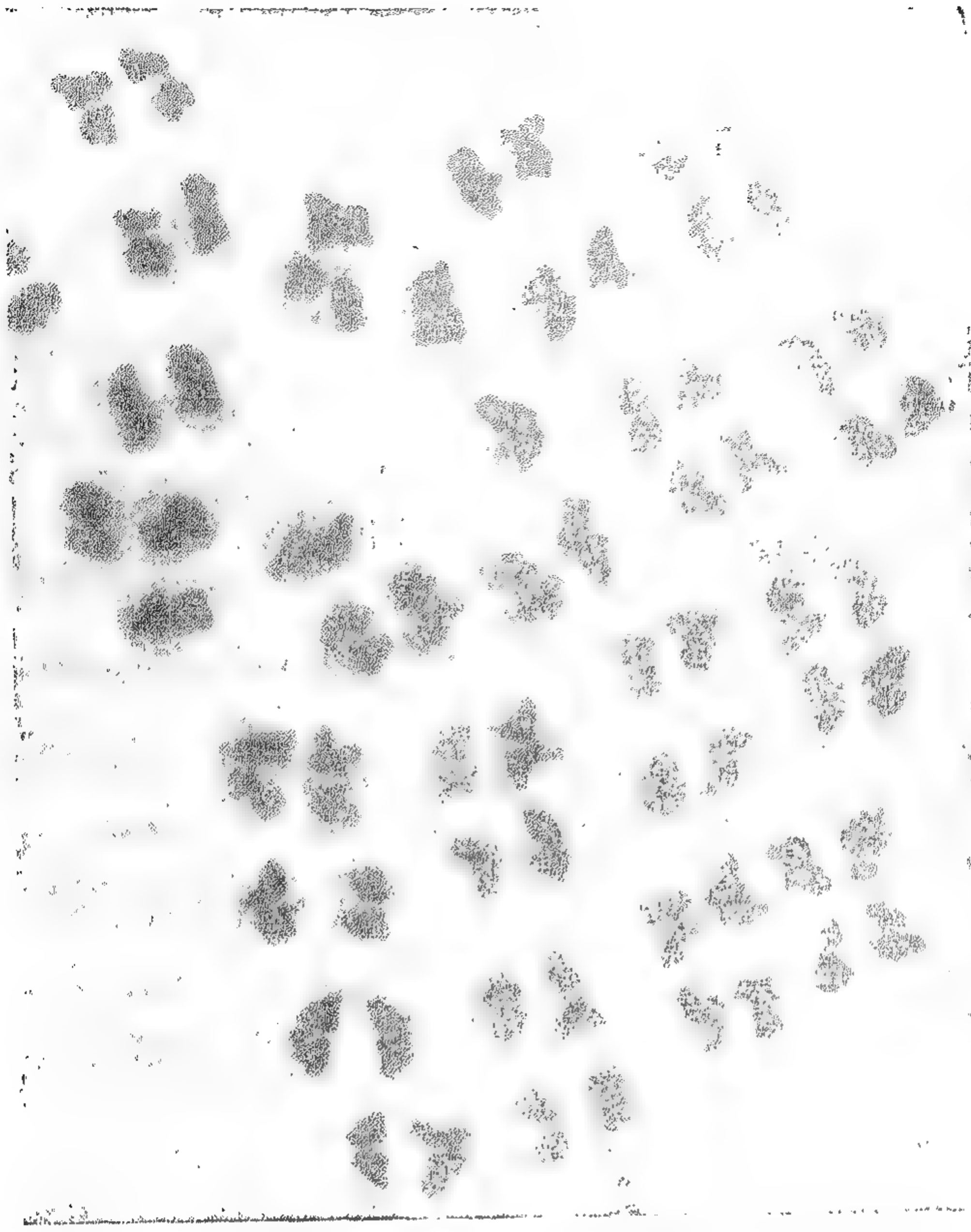
### ٣ — الأجسام الكروماتينية أو النواة في البكتيريا

Chromatin bodies, chromatinic bodies, Bacterial nuclei

إن امكانية مشاهدة الجهاز الوراثي بالخلية البكتيرية اصبح الآن من الامور السهلة بعد ان كان من المتعذر في الماضي . وكان مما يزيد صعوبة تمييز الأجسام النووية في خلايا البكتيريا في الماضي هو الاعتقاد بضرورة وجود النواة داخل حدود معلومة كما هو الحال في خلايا النباتات والحيوانات . وقد تمكن بعض الباحثون القدامى من صبغ الـ DNA في الاجسام النووية ومشاهدته وهو في حالات مختلفة من الانقسام (شكل ٢٤) بعد معاملة الخلايا معاملات خاصة لتخليصها من المحتويات النووية الاخرى مثل الـ RNA والتي كانت تختلط في مظهرها بعد الصبغ مع الاجسام النووية . ثم بعد ذلك يمكن مشاهدتها بعد صبغها بالصبغات المتخصصة لصبغ الـ DNA مثل صبغة Feulgen . وفي الصور الالكتروميكروسكوبية يمكن أن تظهر الأجسام النووية كمنطقة شفافة (قليلة الكثافة) لها شكل غير منتظم خلال السيتوبلازم (شكل ١٠) وتحتوى عادة الخلية البكتيرية في مرحلة النمو على واحد او اكثر من هذه التجمعات للمادة النووية . وعدد هذه التجمعات النووية يعتمد على معدل النمو وعلى النوع ، ففي بعض الانواع تابعة للجنس *Bacillus* قد تحتوى على ٧ مناطق نووية منفصلة .

ووجد أن التركيب الاساسى الذى يحتوى على المعلومات الوراثية في خلية البكتيريا عبارة عن شريط مزدوج من الـ DNA غير محاط بجدار يفصله عن السيتوبلازم وأن هذا الجزئ الطولى المفرد من الـ DNA يلتف حول نفسه ليكون حلقة مقفلة يعرف بالكروموسوم الدائرى *circular chromosome* وأن كمية المعلومات المحمولة على الكروموسوم تتناسب مباشرة مع طوله ، فمثلا في كائن بسيط مثل *Mycoplasma hominis* فهو يحتوى على كروموسوم طوله  $265 \mu m$  \* في حين انه في كائن اكثر تعقيدا مثل الـ *E. coli* فإن طول الكروموسوم يصل الى  $1100 \mu m$  . أى قدر طول الخلية ١٠٠٠

\*  $\mu m$  = micrometer = ١٠-٦ متر .



شكل ٢٤ : صورة ميكروسكوبية لخلايا البكتيريا الكروية *Micrococcus radiodurans* تبين الخلايا في مراحل الإنقسام الخلوي مع ملاحظة إنقسام محتوياتها النووية المصبوغة (عن Klieneberger - Nobel 1965)

مرة تقريبا . وهذا الكروموسوم الملتف يشغل تقريبا ١٠٪ من حجم الخلية . ويعتقد أن محتويات الكروموسوم البكتيري من الجينات تمثل وحدة عبورية مفردة .

وكما ذكرنا قد تشاهد بداخل الخلية الواحدة أكثر من وحدة دائرية أو كروموسوم دائري واحد نتيجة لتكراره . وقد يمكن صبغ هذه الكروموسومات حيث يمكن مشاهدتها بأشكال مختلفة مثل  $\gamma$  أو  $\gamma$  أو 8 . مما تقدم يلاحظ أن

المحتويات النووية البكتيرية لا يمكن أن تتساوى بأى حال من الأحوال بكموسومات الكائنات الأرقى حيث أنها تنقسم مباشرة دون المرور في الاطوار المعروفة للانقسام غير المباشر . Mitosis او الانقسام الاختزالي Meiosis . هذا وتركيب الـ DNA البكتيرى قد يختلف من بكتيريا الى اخرى فقد لوحظ ان نسبة الجوانين Guanine (G) + السيتوزين Cytosine (C) في الـ DNA تعتبر صفه ثابتة للنوع البكتيرى وانها تتراوح بين ٢٢٪ في بعض الكائنات مثل الميكوبلازما والبكتيريا غير الهوائية الى ٧٤٪ كما في بعض البكتيريا الهوائية إجبارا .

#### ٤ - الإبيسومات والبلازميدات Episomes and Plasmids

يطلق اصطلاح الإبيسومومات على تركيبات هي عبارة عن أجزاء من الـ DNA والتي توجد في الخلية البكتيرية خارج الكروموسوم البكتيرى extrachromosomal DNA وهذه تكون قادرة على تكرار نفسها مستقلة في ذلك عن تكرار الكروموسوم البكتيرى . وفي بعض الاحيان قد تتصل بالكروموسومات وفي هذه الحالة لا تتكرر الا عند حدوث تكرار للكروموسوم نفسه . ويصل حجم هذه التركيبات أو الأجزاء من الـ DNA الى ١٠٪ من حجم الكروموسوم وقد تلعب هذه الاجزاء دورا هاما في نقل المادة الوراثية بين البكتيريا مثل عامل الحصوبة F-factor الموجود في البكتيريا *E. coli* K-12 .

ويطلق اسم البلازميدات على العناصر الوراثية (DNA) التي توجد في السيتوبلازم ولا ترتبط بالكروموسوم ولا تدخل في تركيبه . وتوجد أنواع من هذه البلازميدات حاملة للمعلومات الوراثية التي تحدد مقاومة او حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية كما في انواع الـ *Salmonella*, *E. coli* وكذلك القدرة على تكوين الأورام النباتية في حالة بكتيريا التدرن التاجى *Agrobacterium tumefaciens*.



## ٥ — الريبوسومات Ribosomes

يطلق هذا الاسم على الحبيبات ذات الاقطار التي تتراوح من ١٠ الى ٢٠ nm والتي تتكون من بروتين — وحمض ريبونيوكلريك (Riponucleoprotein) (RNA-Protein particles) ويوجد بها ٩٠٪ من RNA الخلية، وتمثل ٤٠٪ من الوزن الجاف للخلية، وهي التراكيب التي يتم فيها بناء البروتين. ويتناسب عدد الريبوسومات في الخلية البكتيرية مع معدل النمو في المزرعة فعندما يكون النمو على معدل مرتفع فان الخلية تحتوي على عدد كبير من الريبوسومات. وقد يصل عدد الريبوسومات في السيتوبلازم الى ١٥,٠٠٠ حبيبة في الخلية الواحدة السريعة النمو، أما عند تعرض الخلية لنقص شديد في الغذاء فإنها تحتوي فقط على عدة مئات من الريبوسومات ويمكن ترسيب الريبوسومات على سرعات عالية بجهاز الطرد المركزي فائق السرعة ultracentrifuge، فكلما كانت أسرع في الترسيب دل ذلك على كبر كثافتها واقطارها والريبوسومات البكتيرية تعتبر من النوع الصغير 70 S ribosomes والحرف S يشير إلى وحدة الترسيب وهو الحرف الأول من اسم العالم السويدي سفدبارج Svedberg والذي لعب دورا هاما في تقدم عملية الطرد المركزي فائقة السرعة. وتتكون الريبوسومات من وحدتين في حالة البكتيريا تكون الوحدتين من 50 S, 30S واثناء بناء البروتين فأنهما يتحدان ليكونان ريبوسومات كبيرة 70 S، وتنفصل الريبوسومات 70 S الى الوحدتين الاصغر 50 S, 30S في محلول ذو تركيز منخفض ١٠ - ٤ جزئى من المغنسيوم ( $Mg^{++}$ ) ثم يعاد تصاحبها بزيادة تركيز المغنسيوم الى ١٠ - ٢ جزئى. وعند بناء البروتين فان عدد من ريبوسومات 70 S ترتبط بواسطة ال Messenger RNA (m RNA) لتكون سلاسل تعرف بالبولىسومات Polysomes (شكل ٢٥) ويبدو أنه يوجد نوع من الارتباط بين البولىسومات والغشاء السيتوبلازمى خلال بناء البروتين.

ويلاحظ ان الريبوسومات في خلايا الايو كاريوتات تتكون من وحدات 40 S ووحدات 60S يتحدان ليكونان ريبوسومات 80 S .

## ٦ — حوامل الألوان Chromatophores

تحتوى البكتيريا الممثلة للضوء على صبغات وكذلك إنزيمات تختص بتحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية . وتوجد هذه الصبغات والانزيمات المحولة للطاقة في تراكيب ذات أغشية تسمى حوامل الألوان Chromatophores (شكل ٢٦ وشكل ٢٧) وحوامل الألوان في بكتيريا الكبريت القرمزية (*Chromatiaceae*) وبكتيريا الكبريت غير القرمزية (*Rhodospirillaceae*) عبارة عن امتدادات للغشاء السيتوبلازمى بأشكال مرفولوجية مختلفة ، ففي بعض البكتيريات تكون على صورة حويصلات Vesicles أو على صورة أجسام أنبوبية أو في صورة نظام متراس على هيئة طبقات . وجهاز التمثيل الضوئى في حالة بكتيريا الكبريت الخضراء (*Chlorobiaceae*) ، يوجد في صورة أكياس داخلية internal sacs (chlorobium vesicles) وهذه الاكياس ليست امتدادات للأغشية السيتوبلازمية فهي بذلك لا تحاط بأغشية بل تحدد من الخارج بطبقة واحدة من الكلوروفيل تمثل سطحها الخارجى . معظم خلايا الكائنات ذات النواه البدائية والتي تقوم بعملية التمثيل الضوئى تحتوى على فجوات غازية gas vacuoles ، تعمل كوسيلة لتنظيم العمق الذى تحفظ عليه هذه الكائنات فى الوسط المائى الذى تنمو فيه . حيث أن هذه الأنواع غير متحركة فيما عدا شواذ وبذلك فإن هذه الفجوات تكون وسيلة لتحريك الكائن ليعلو أو ليهبط ليعيش فى منطقة ذات إضاءة مناسبة .

## ٧ — السيتوبلازم الذائب Soluble cytoplasm

يجب تخصيص أو تحديد هذا الجزء الخلوى ولكن يمكن التأكد من أن هذا الجزء يشتمل على أكثر من ٥٠٪ من بروتين الخلية ، وكذلك على

معظم النظم الانزيمية بالخلية، علاوة على ما يحتويه من مواد غذائية ذائبة.

#### ٨ — المواد المخزنة أو المحتويات

السيتوبلازمية Storage materials  
or Cytoplasmic inclusions

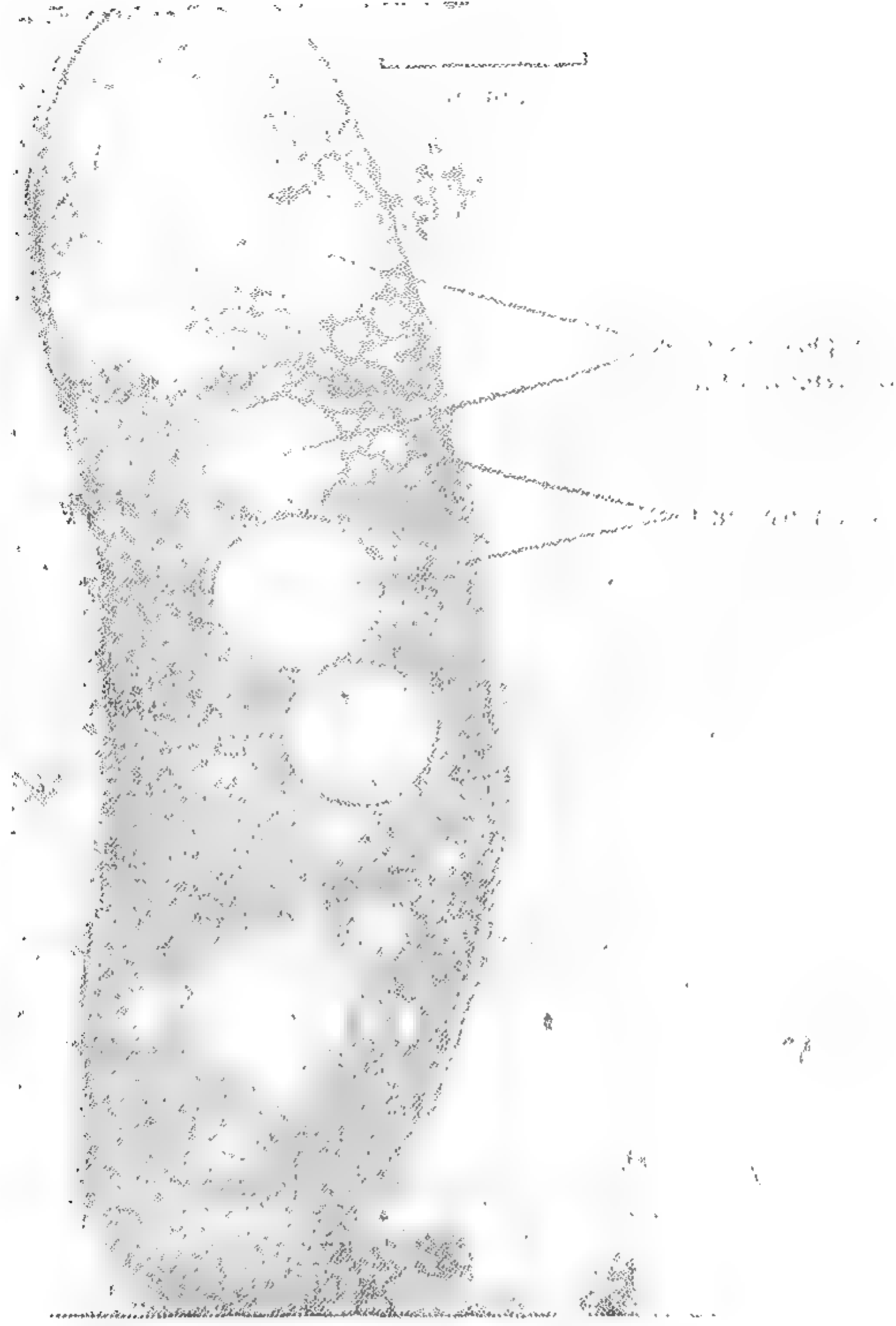
كثير من البكتيريا تخزن حبيبات granules في السيتوبلازم وهذه الحبيبات تعمل كمخزن للمواد الغذائية ويمكن مشاهدتها بطرق صبغ خاصة وتكون هذه الحبيبات كبيرة بدرجة يمكن مشاهدتها بالميكروسكوب الضوئي. ويبدو أن الخلية تتجنب



شكل ٢٥ : صورة إلكتروميكروسكوبية تبين تكون البوليسومات Polysomes نتيجة لارتباط الريبوسومات مع لا RNA (عن Levey et al. 1973).



شكل ٢٦ : صورة إلكتروميكروسكوبية تبين الثنيات الكثيرة المتكونة من الغشاء السيتوبلازمي في البكتيريا المثلثة للضوء *Ectothiorhodospira mobilis* (عن Nester et al. 1978).



شكل ٢٧ : قطاع رقيق للبكتيريا الممثلة بالضوء *Rhodospirillum rubrum*  
لاحظ أن السيتوبلازم ممتلئ بحوامل لألوان Chromatophores والحببيات granules  
المكونة من حمض البولي - بيتا - هيدوكس بيوتريك (عن Nester et al. 1978)

مشكلة زيادة الضغط الاسموزي في داخلها بتحويل العديد من  
الجزيئات الصغيرة الى عدد قليل من الجزيئات الكبيرة غير الذائبة،  
وبناء هذه المحتويات السيتوبلازمية يعتمد كثيرا على ظروف البيئة وعلى نوع  
الكائن . فاذا كانت البيئة تحتوي على زيادة من المواد الغذائية فان الخلايا  
غالبا سوف تحول هذه المواد الى صورة جزيئات كبيرة وتخزنها حتى وقت



الحاجة اليها وتختلف البكتيريا في أنواع المواد التي تخزنها ومن هذه المواد :

#### ١ - حبيبات الجليكوجين Granulose Glycogen granules

تظهر حبيبات الجليكوجين ككرات شفافة بدون غشاء في الصور الالكتروميكروسكوبية . ومن أمثلة البكتيريا التي تظهر فيها هذه الحبيبات *E. coli* و *Aerobacter aerogenes* ، وقد يمثل الجليكوجين في بعض الاحيان ٢٥ الى ٥٠٪ من الوزن الجاف للخلية . وتميل حبيبات الجليكوجين للتراكم في *E. coli* تحت ظروف نقص النيتروجين وعندما تضاف المواد النيتروجينية مثل املاح الامونيوم فأن الجليكوجين المتراكم سوف يتحطم ويستعمل كمصدر للكربون والطاقة .

ويمكن صبغ حبيبات الجليكوجين باستعمال محلول مخفف من اليود حيث تظهر هذه الحبيبات في صورة أجسام حمراء أو قرمزية .

#### ب - حبيبات الدهون Lipid granules

يطلق هذا الاسم على المواد التي تذوب في مذيبات الدهون مثل الاثير ethyl ether والاسيتون . وتستعمل صبغة السودان الاسود Sudan black لصبغ هذه الحبيبات الدهنية ، وهذه الصبغة تذوب في الدهون وبالتالي يمكن مشاهدتها ميكروسكوبيا . وعادة يكون التركيب الكيماوى لهذه الحبيبات الدهنية في البكتيريا هو حمض البولى بيتا هيدروكسى بيوتريك Poly -  $\beta$  - hydroxybutyric acid ( شكل ٢٧ ) ويلاحظ أن تكوين كميات كبيرة من هذا الدهن يعتمد على وجود مصادر كربونية معينة ، مثل الخلات acetate والبيوتيرات butyrate . وتخزن البكتيريا *Bacillus megatcrtium* و *Pseudomonas solanacearum* كميات كبيرة من حمض البولى بيتا هيدوكسى بيوتريك . وفي الكائن الثانى

تصل نسبة هذا المركب الى حوالى ٦٠٪ من الوزن الجاف الخلوى . كما هو الحال فى الجليكوجين فان عدم ذوبان هذا الدهن فى الماء لا يؤثر اطلاقا على الضغط الأسموزى بداخل الخلية .

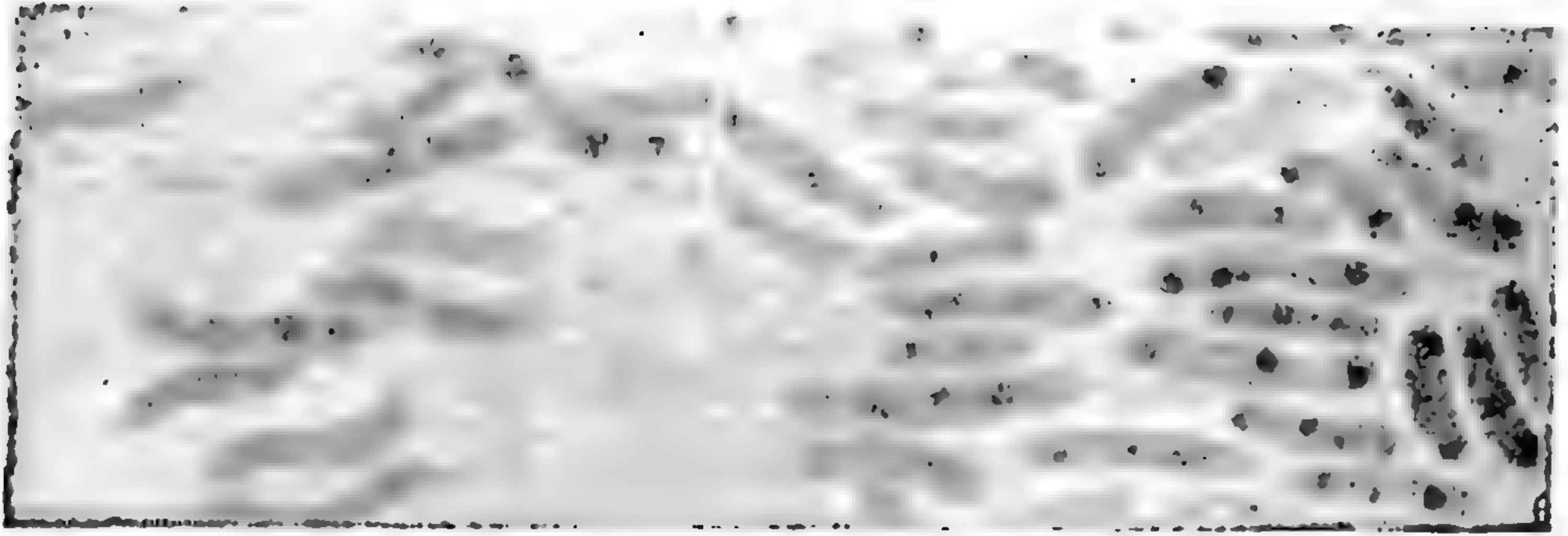
#### ج - عديد الفوسفات غير العضوى Inorganic polyphosphate

(Metachromatic granules =) (volutin granules =)

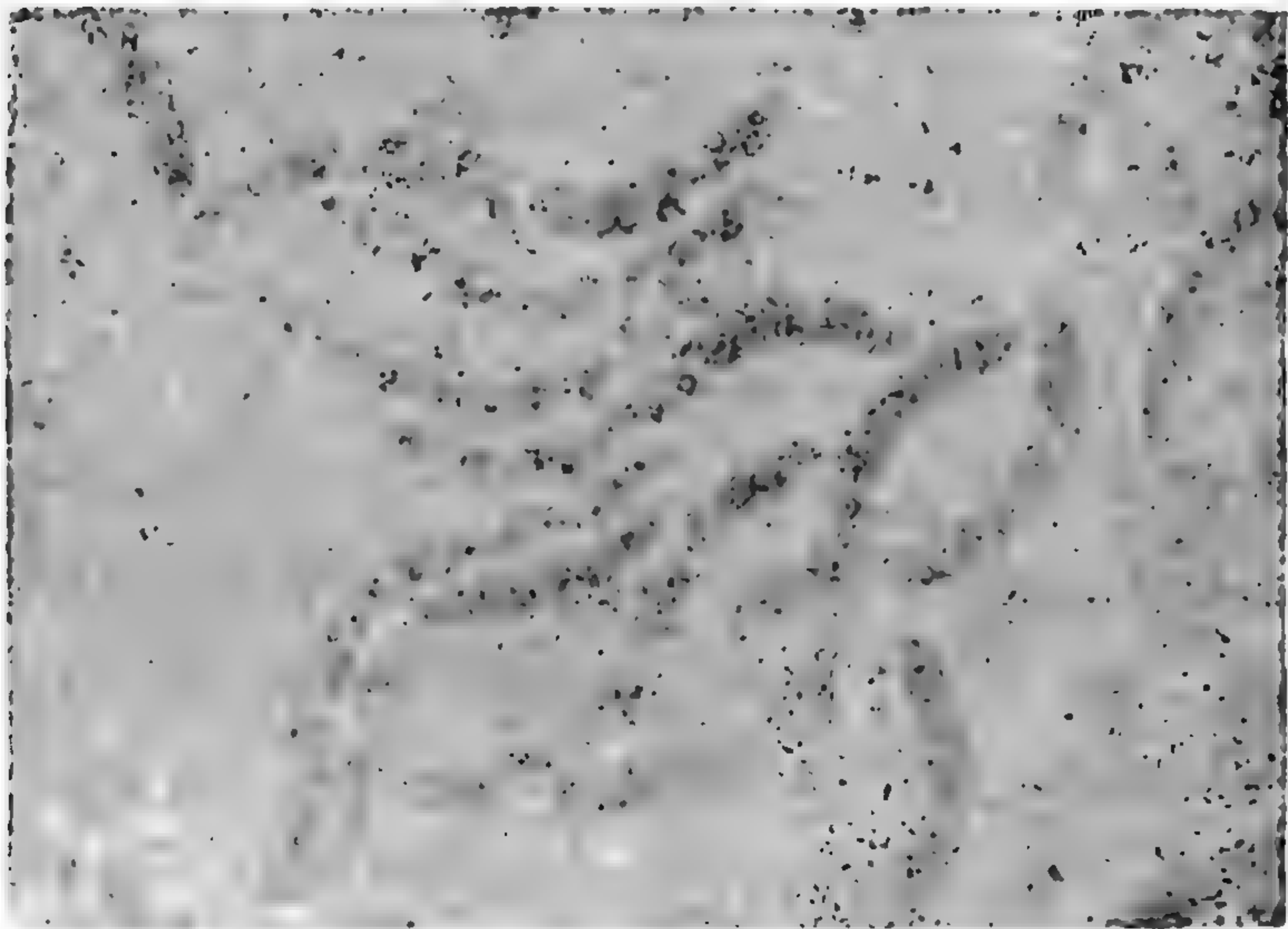
تميل هذه الحبيبات للتراكم عند نهاية دورة النمو وتختفى من السيتوبلازم اذا نقلت الخلايا الى بيئة جديدة . وقد وصفت هذه الحبيبات كصفة مميزة للبكتيريا *Corynebacterium diphtheriae* . ونظرا لطبيعتها حبيبات الفوليوتين الحمضية فأنها تصطبغ بشدة بالصبغات القاعدية . وقد أطلق على هذه الحبيبات اسم metachromatic granules وذلك بسبب اكتسابها لونا يخالف لون الصبغة المستعملة ، فعندما تصبغ مثل هذه الحبيبات بصبغة مثل التواودين Toluidine (شكل ٢٨) أو أزرق المثلين فأنها تأخذ ألوانا مختلفة عن لون الصبغة الاصلى . وعديد الفوسفات فى البكتيريا قد يتكون من سلسلة من ٥٠٠ وحدة من الفوسفات وعلى ذلك يتكون جزئ غير ذائب لا يؤثر على الضغط الأسموزى بداخل الخلية ويبدو أن هذه الفوسفات المخزنة تعتبر مصدرا للفوسفات يستغل بواسطة الخلية عند تخليق الاحماض النووية والفوسفوليبيدات (الدهون الفوسفورية) .

#### د - قطرات الكبريت : Sulfur droplets

تخزن بعض البكتيريا الكبريت فى صورة كبريت عنصرى داخل الخلايا (شكل ٢٩) . وهو يخزن فى خلايا بعض انواع البكتيريا مثل بكتيريا الكبريت القرمزية purple sulfur bacteria حيث تستعمل بدهم ككمعطى للايدروجين وترسب الكبريت الناتج داخل الخلايا . والبكتيريا *Beggiatoa* قد تحصل على الطاقة عن طريق اكسدة الكبريتيد وان الكبريت الناتج يترام أيضا داخل الخلايا . وبمجرد ان يصبح الكبريتيد محدود فى البيئة فان كلا المجموعتين تؤكسدان الكبريت الى كبريتات .



شكل ٢٨ : خلايا من جنس *Spirillum* مصبوغة بالتوليدين تين حبيبات الفلويوتين vultine



شكل ٢٩ : خلايا البكتيريا *Thiospirillum Jenese* وبها حبيبات الكبريت

(من Schlegel and Pfenning 1961)

## المراجع

- Blank, F. 1953. Biochem Biophys. Acta. 10 : 110 — 113.
- Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Edition.  
W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1035 p.
- Castle, E. S. 1945. Am. J. Bot. 36. 148 — 151.
- Duguid, J.P. and J. F. Wilkinson. 1953. J. Gen. Microbiol. 9 : 174 —  
189.
- Foster, J.W. 1949. Chemical activities of fungi. Academic Press,  
New. York.
- Frey, R. 1950 Ber. schweiz Bot. Ges. 60 : 199 — 230.
- Goebel. W: F. 1939. J. Exp. Med. 69: 353 - 364.
- Heidelberger, M. 1935. 12 th growth symposium Princeton N.J. Princeton  
University Press.
- Klieneberger-Nobel, E. 1965 Focus on Bacteria. Academic Press,  
Londoni and New York, 145 p.
- Knaysi, G. 1951. Elements of Bacterial Cytology. 2nd Ed. Comstock  
(Cormell University Press), Ithaca. New York.
- Levy, J., J.J.R. Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory  
Microbiology. John Wiley and Sons, INC. New-York. 684 p.
- Lundgren, D.G., D.J. Ellar, and R. Silepeckly. 1967. J. Bacteriol 94 :  
1189.
- Mason. D. J. and D. M. Powilson. 1956. J. Bacteriol 71 : 447,
- Mudd, S. L.C. Winterscheid, E.D. Delamater and H. Henderson 1951.  
J. Bacteriol 62 : 459.



- Murray, R.G.E. 1960 "The internal structure of the cell", The Bacteria (I.C. Gunsberg & R. Y. Stanier, Eds.) Academic Press N.Y. & London.
- Nester, E.W., C. E. Roberts, NN, Pearsall, and B.J. McCarty, 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York. 769 p.
- Neufeld, E. 1920 Z. Hyg. 40, 45 — 72.
- Northcote, D.H. and B. W. Horne 1952. Biochem. J. 51 : 233 — 236.
- Piekarski, G. 1937. Arch. Mikrobiol. 8 : 428.
- Robiniow, C.F. 1956 in "Bacterial Anatomy" (E.T.C. Spooner and B.A.D. Stocker) eds. p. 181. Cambridge Univ. Press. London and N.Y.
- Salton, M.R. and R. W. Horne 1951. Biochem., Biophys. Acta. 7 : 177 — 187.
- Schlegel, H. G. and N. fenning 1961. Arch. Mikrobiol. 38 : 28 .
- Thimann, K.V. 1961. The life of Bacteria. The Mac Millan company, N.Y. 775 pages.
- Tulanse, R. and R. Venderl, 1947. Nature 160 : 225.
- Weibull, C. 1953. J. Bacteriol. 66 : 137.
- Widra, J. 1956. Bacteriol J. 71 : 689.

## الفصل الثالث

### حركة البكتيريا

يمكن لخلايا البكتيريا أن تتحرك بطرق شتى فبينما نجد بعض البكتيريا تتحرك حركة إنزلاقية *gliding movement* وتتميز بهذا النوع من الحركة أفراد البكتيريا الهلامية *Myxobacteria* وأفراد الجنس *Beggiatoa* ونرى البعض الآخر يتحرك حركة دودية *flexion movement* أو حركة دائرية سريعة على طول محور الخلية كما في الإسبيروكيتات *Spirochaetes* وستناقش هنا هذه الأنواع من الحركة .

معظم البكتيريا المتحركة *motile* تمتلك أعضاء دقيقة وطويلة يطلق عليها أعضاء الحركة تسمى الأسواط *flagella* (مفرد *Flagellum*) . والأسواط خيوط دقيقة جدا من البروتين تخرج من السيتوبلازم خلال الجدار الخلوي وطبقة الغلاف ويتراوح سمك السوط من ١٠ إلى ٣٠ نانو متر (n m) وقد يصل طوله إلى ١٥-٢٠ ميكرو متر ( $\mu m$ ) ولا يشاهد بالميكروسكوب الضوئي إلا بطرق صبغ خاصة ، فيعامل الغشاء أولا بمعمق اللون *mordant* وغالبا يكون محلول غروي غير ثابت والذي يرسب طبقة سميكة لمادة قابلة للصبغ فوق سطح الخلايا و سطح الأسواط أيضا . ثم يستعمل بعد ذلك صبغة مناسبة . هذه المادة المرسبة تظهر بالميكروسكوب الضوئي كخيوط مصبوغ والذي يحتوي ويمثل شكل السوط نفسه . وأحسن طريقة لتحديد عدد الأسواط وتوزيعها على الخلية هو بإستعمال الميكروسكوب الإلكتروني . والسوط يكون متموج وأن طول الموجة غالبا يكون ثابت للسلالة البكتيرية المعينة . ويوجد توزيعين أساسيين للأسواط :

- ١ - عند طرف أو طرفي الخلية ويطلق عليه تسوط طرفي *polar flagellation* وقد يكون سوط واحد عند الطرف *polar monotrichous flagellation* (شكل ٣٠) أو عديد من الأسواط

عند الطرف polar multirichous flagellation (شكل ٣١) . (قد يطلق على البكتيريا التي تحتوي ٢ أو أكثر من الأسواط عند طرف واحد الاسم lophotrichous والتي تحتوي على خصلة من الأسواط عند كلا الطرفين اسم amphitrichous) .

٢ - توجد الأسواط موزعة عند عدة نقط على إمتداد جسم الخلية ويطلق عليه تسوط محيطي peritrichous flagellation (شكل ٣٢) . ولقد وصف ليفسون Leifson (١٩٦٠) توزيع الأسواط على سطح الأنواع المختلفة من البكتيريا (شكل ٣٣) كالآتي :

١ - تسوط طرفي polar وفيها قاعدة السوط موازية للمحور الطولي للخلية وقد تكون :

أ - وحيدة التسوط monotrichous

أو ، ب - عديدة التسوط multitrichous

٢ - تسوط تحت طرفي subpolar ويوجد سوط واحد أو أكثر بالقرب من الطرف وتجد أن قاعدة السوط متعامدة مع المحور الطولي لجسم الخلية وقد تكون .

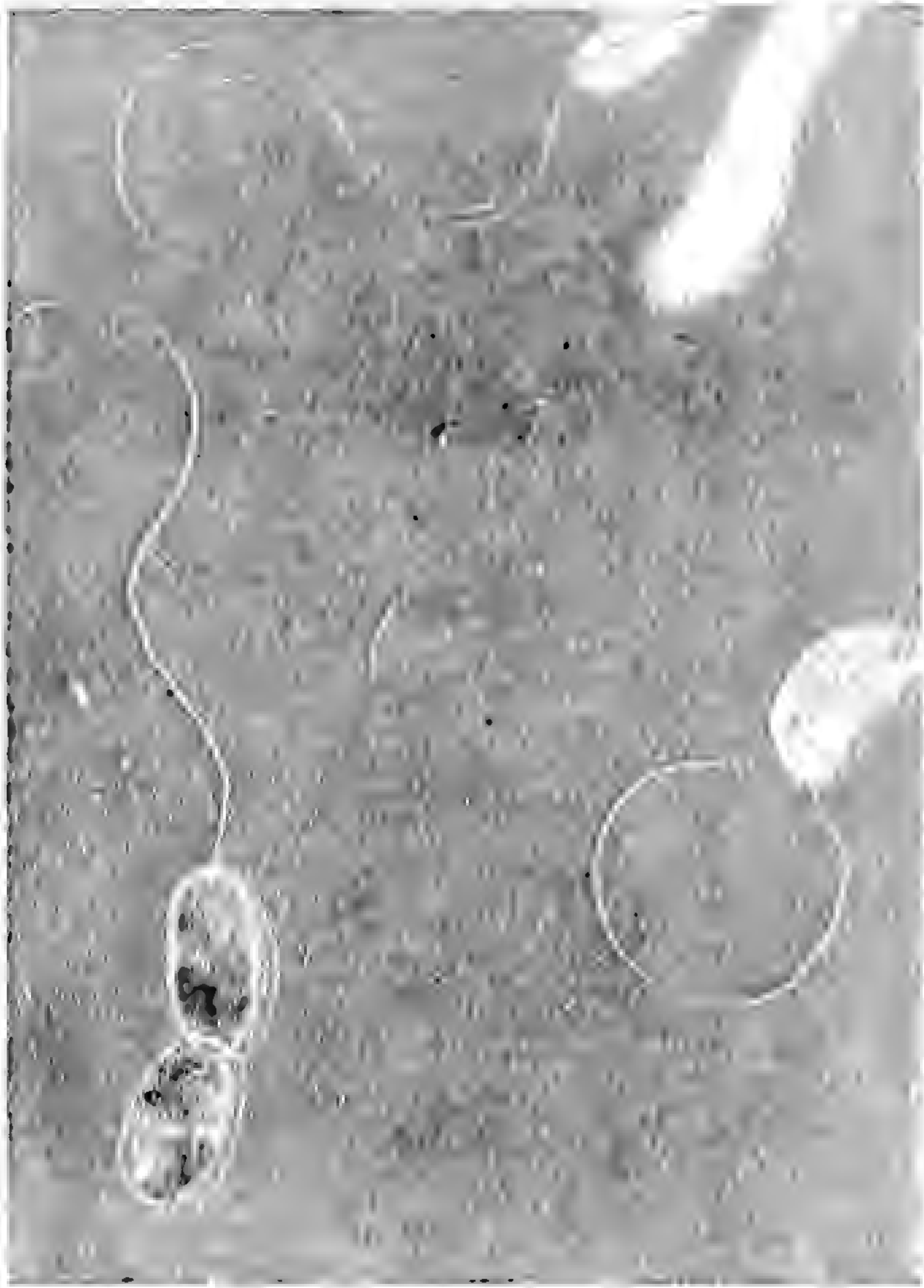
أ - وحيدة التسوط . أو ب - عديدة التسوط .

٣ - جانبية التسوط : Lateral

أ - وحيد التسوط : دائما السوط على النصف الوسطي للخلية .

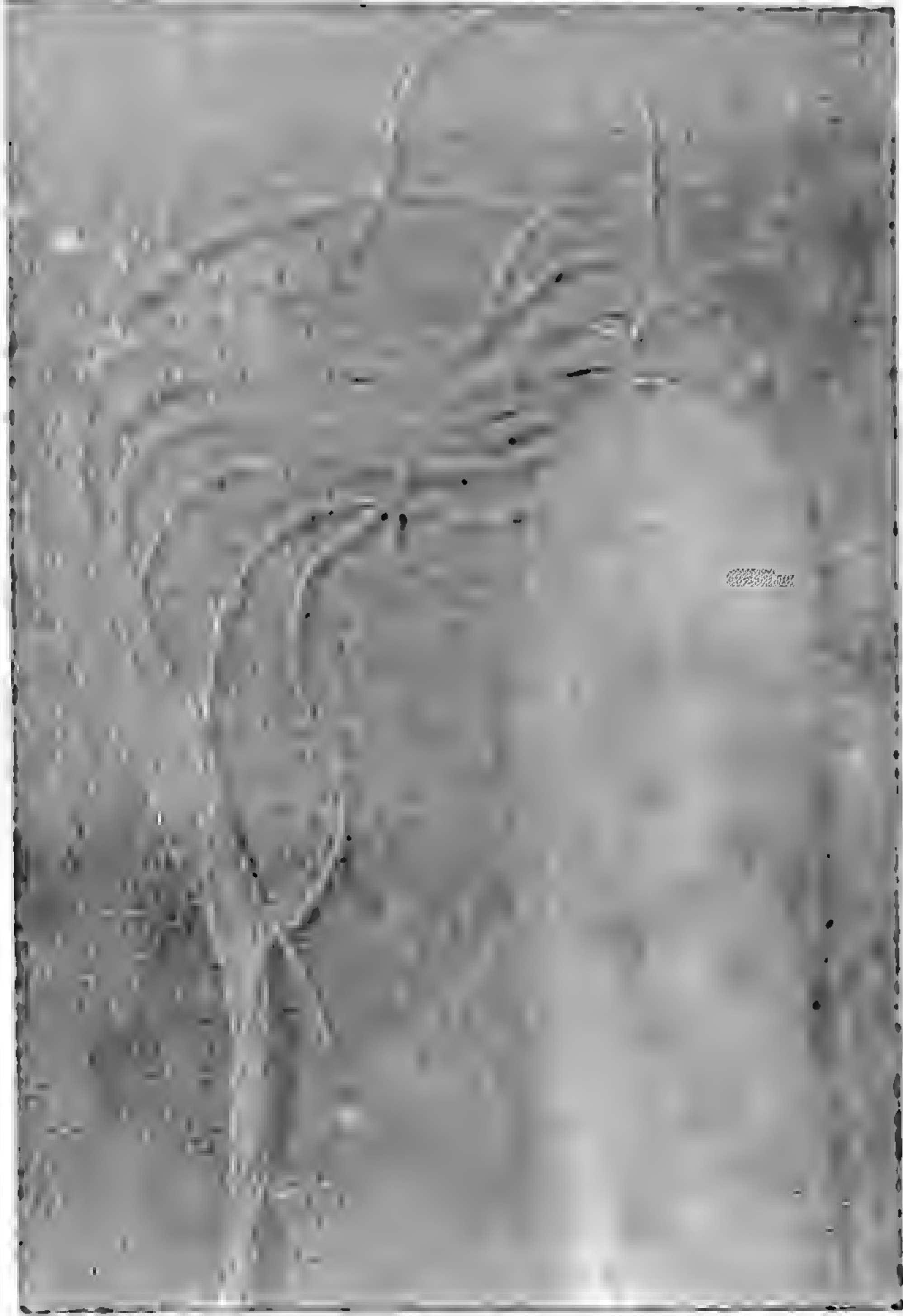
ب - عديد التسوط : عدة أسواط أو خصلة من الأسواط على النصف الوسطي للخلية .

٤ - جسمية التسوط peritrichous : الأسواط موزعة إعتباطيا ماعدا الأطراف .



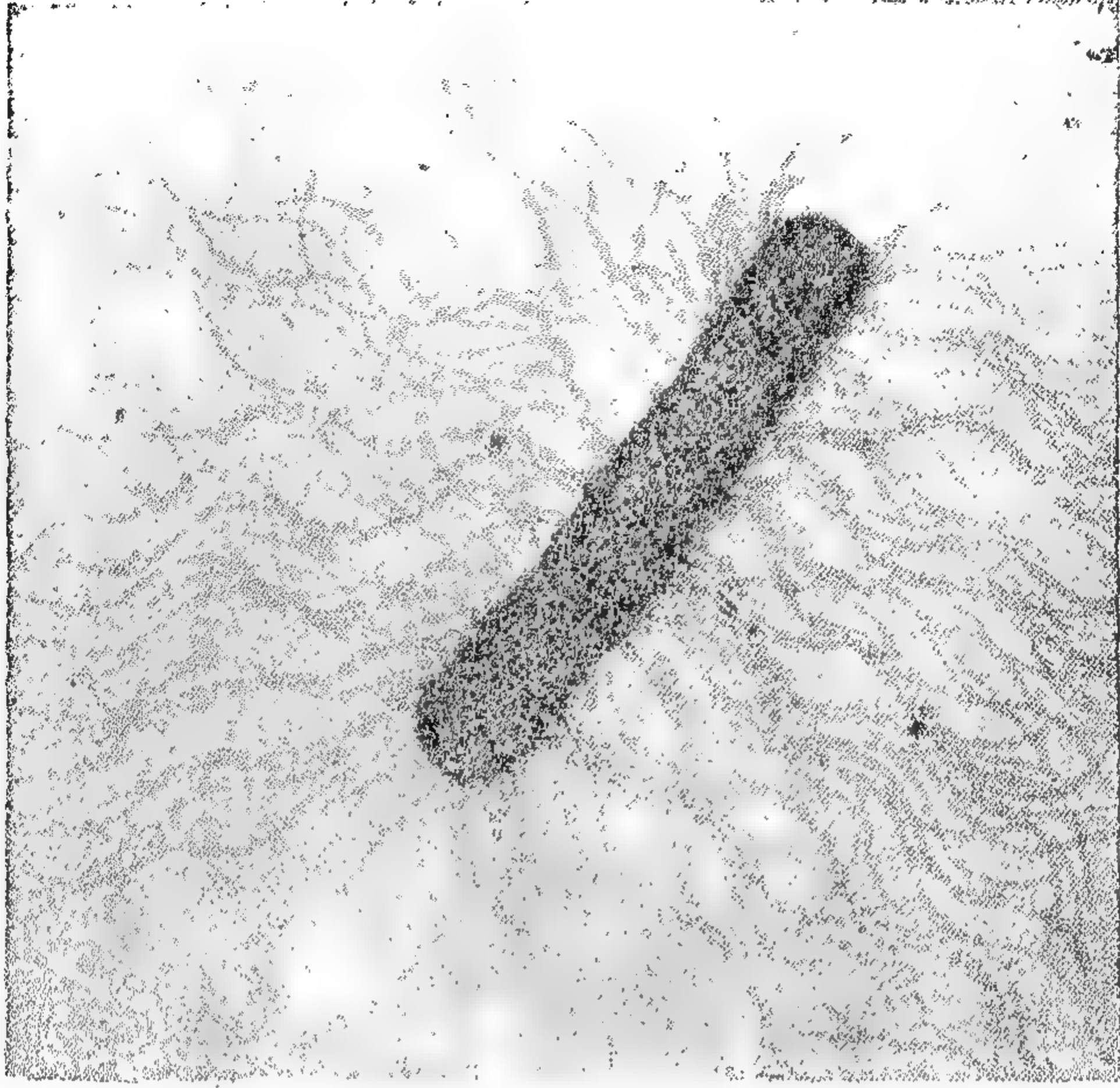
شكل ٣٠ : صورة إلكتروميكروسكوبية للبكتيريا *Vibrio metchnikovi*  
تبين الأنواع الطرفية الفردية لاحظ الجدر الخلوية لهذه البكتيريا ووضوحها على الجانب الأيمن  
من الخلية، لاحظ الإلتصاقات الميزة الأسواط  $\times 10,000$  (عن Klleneberger - Nobel 1965)





شكل ٣١: "خلية" من نوع يتبع جنس *Spirillum* يتميز بسرعة حركته في اتجاه مستقيم وينعكس إتجاهه فجأة . ويمتلك مجموعة من الأسواط على كل من طرفيه . لاحظ تجمع الأسواط . كما تلاحظ النقاط الفامقة بداخل الخلية والتي تمثل الفجوات ( $\times 35000$ )

(من Klieneberger - Nobel 1965 )



شكل ٣٣ : صورة إلكتروميكروسكوبية لإحدى سلالات البكتيريا تبين التسوط المحيطي .

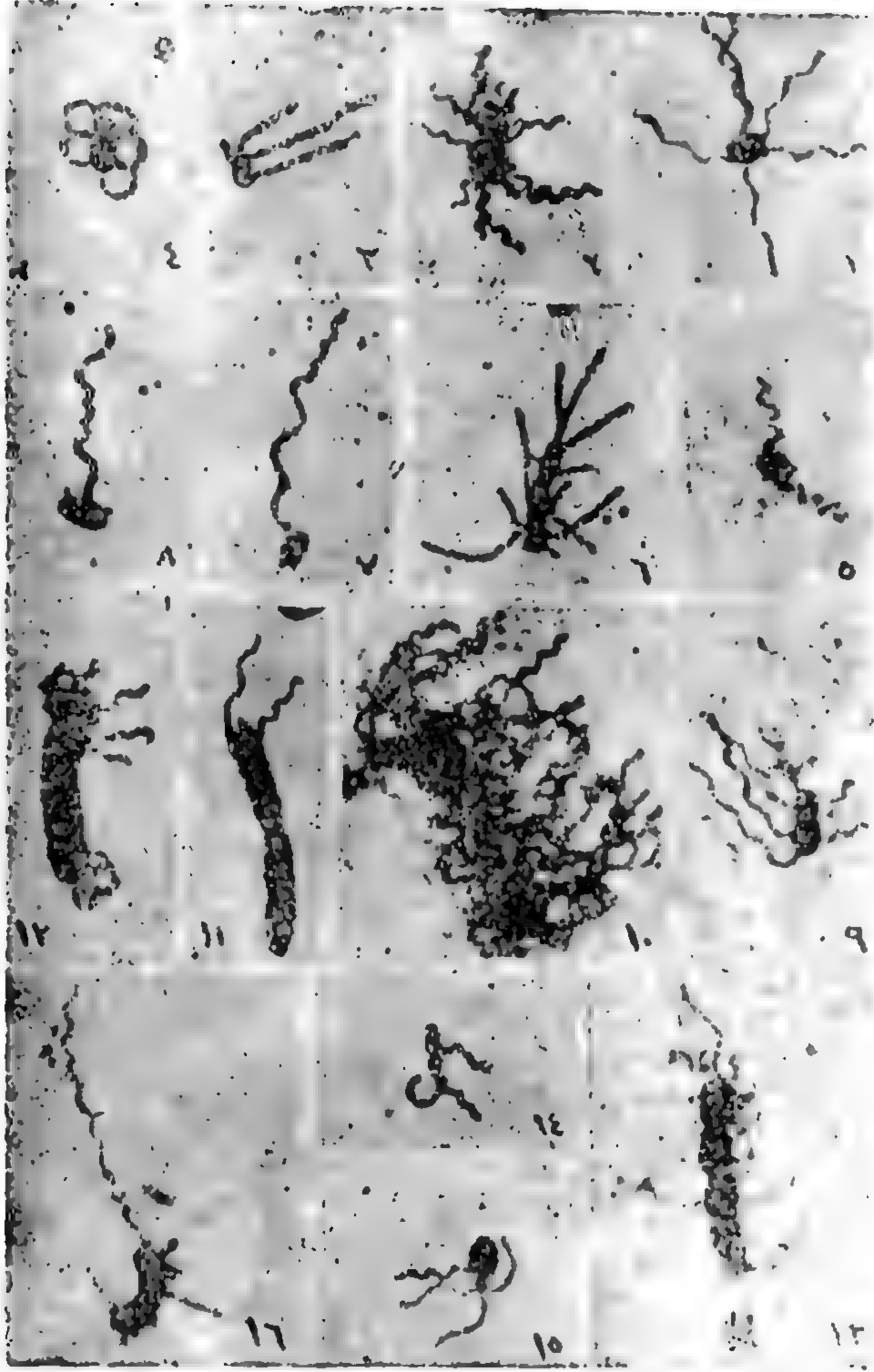
(من Levy et al. 1973)

٥ - مختلطة التسوط mixed : حيث يوجد سوطان أو أكثر في مناطق مختلفة من سطح الخلية .

وسجلت حالات لأسواط مغلقة sheathed flagella فتوجد أمثلة من أصناف varieties تابعة للجنس *Vibrio* والجنس *Bdellovibrio* ، ووجد أن الغلاف في هذه الحالات يتكون من إمتداد الطبقات الخارجية للجدار الخلوي .

تركيب السوط :

تنشأ الأسواط من أو من خلال الغشاء السيتوبلازمي وقد ثبت ذلك من أن الأسواط تظل متصلة بالسيتوبلازم (شكل ٣٤) عندما هضمت جدر بعض الخلايا المسوطة والحساسة لإنزيم الليزوزايم بتحضيرات من هذا الإنزيم.

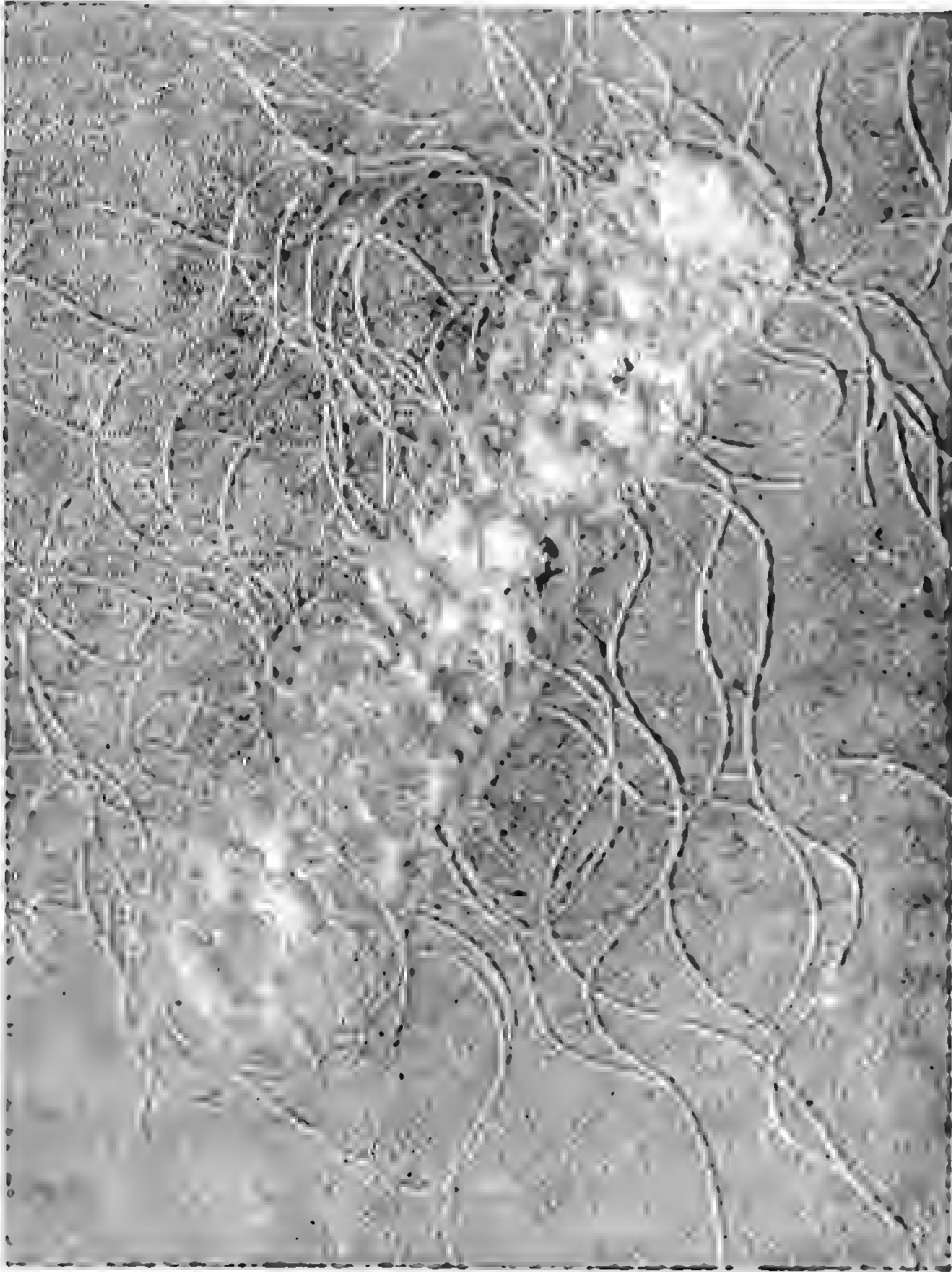


شكل ٣٣ : لوحة تبين أشكال الأسواط البكتيرية وتوزيعاتها المختلفة على الخلايا البكتيرية .  
 ١ - أسواط عادية . ٢ - موجة . ٣ - قليلة التموج . ٤ - ملتفة . ٥ - نصف ملتفة . ٦ -  
 مستقيمة . ٧ ، ٨ - في كل حالة سوط واحد يظهر ظاهرة ازدواج التموج biplicity - ٩ ، ١٠  
 أسواط جسمية مختلفة في طول موجاتها ١١ ، ١٢ ، ١٣ - طرفية وتحت طرفية وجسمية مختلطة  
 mixed ١٤ - الشكل الخطافي هو السوط الطبيعي ، لاحظ منشأة التحت طرفي . باقي الأسواط غير  
 معروفة المنشأ . ١٥ - أسواط طرفية وجسمية مختلطة . ١٦ - سوط طرفي واحد طويل : الزوائد  
 الأخرى غير معروف طبيعتها أو وظيفتها . يحتمل أن تكون زوائد التصاق fimbriae .

ويلاحظ أن الجدار الخلوى السليم يعتبر ضروريا لحركة البكتيريا نظرا لأن الخلايا المتحركة المعاملة بالليزوزايم تكون عبارة عن بروتوبلاست يحمل أسواط ولكن غير قادر على الحركة .

والسوط يتكون من ٣ أجزاء (شكل ٣٥ و شكل ٣٦) . الجزء الذى يظهر فى التحضيرات المصبوغة وهو الخيط Filament ويظهر بشكل حلزوني helical عند الفحص الميكروسكوبى . والخيط يتكون من عدد من ألياف من البروتين التى تلتوى أو تلتف معا لتكون حلزون حول مركز أجوف (شكل ٣٧) . وعدد الألياف يختلف من ٣ إلى ٦ ألياف وفى حالة البكتيريا *Bacillus pumilus* توجد ٦ ألياف من بروتين حبيبي تلتف حول بعضها لتعطى تركيب يشبه الحبل . والمظهر العام للخيط عبارة عن حلزون ( helix ) ذو قناة مفتوحة خلال الخيط كله . وإذا حصلنا على معلق من هذه الخيوط ونخفض pH المعلق إلى ٣ أو ٤ ثم عومل بـ Detergent فإن هذه الخيوط تعطى بروتين ذائب يسمى الفلاجيلين flagellin . ويختلف التركيب الكيماوى لهذا البروتين باختلاف نوع البكتيريا ولكن يتميز هذا البروتين ببعض الصفات الثابتة مثل غياب الحمض الأمينى السيستائين Cysteine منه وإحتوائه على كميات قليلة من الأحماض الأمينية الحلقية وكميات كبيرة من حمض الجلوتاميك وحمض الأسبارتيك .

ويبدو أن الأسواط تزداد فى الطول عن طريق وحدات البروتين التى تكون السوط والتى تخلق فى السيتوبلازم عند قاعدة السوط . وأن البروتين الكروى التام التخليق يمر خارج الخلية خلال الثقب المحورى للسوط ثم يضاف كوحدة فى الخيط النامى . وللسوط طول معين فى النوع البكتيرى الواحد وعندما يسهل هذا الطول . يقف بناء هذه الوحدات ولكن إذا حدث وأن قطع جزء من السوط لأى سبب من الأسباب فإن بناء الوحدات يستمر من جديد حتى يصل السوط إلى طوله المعتاد .



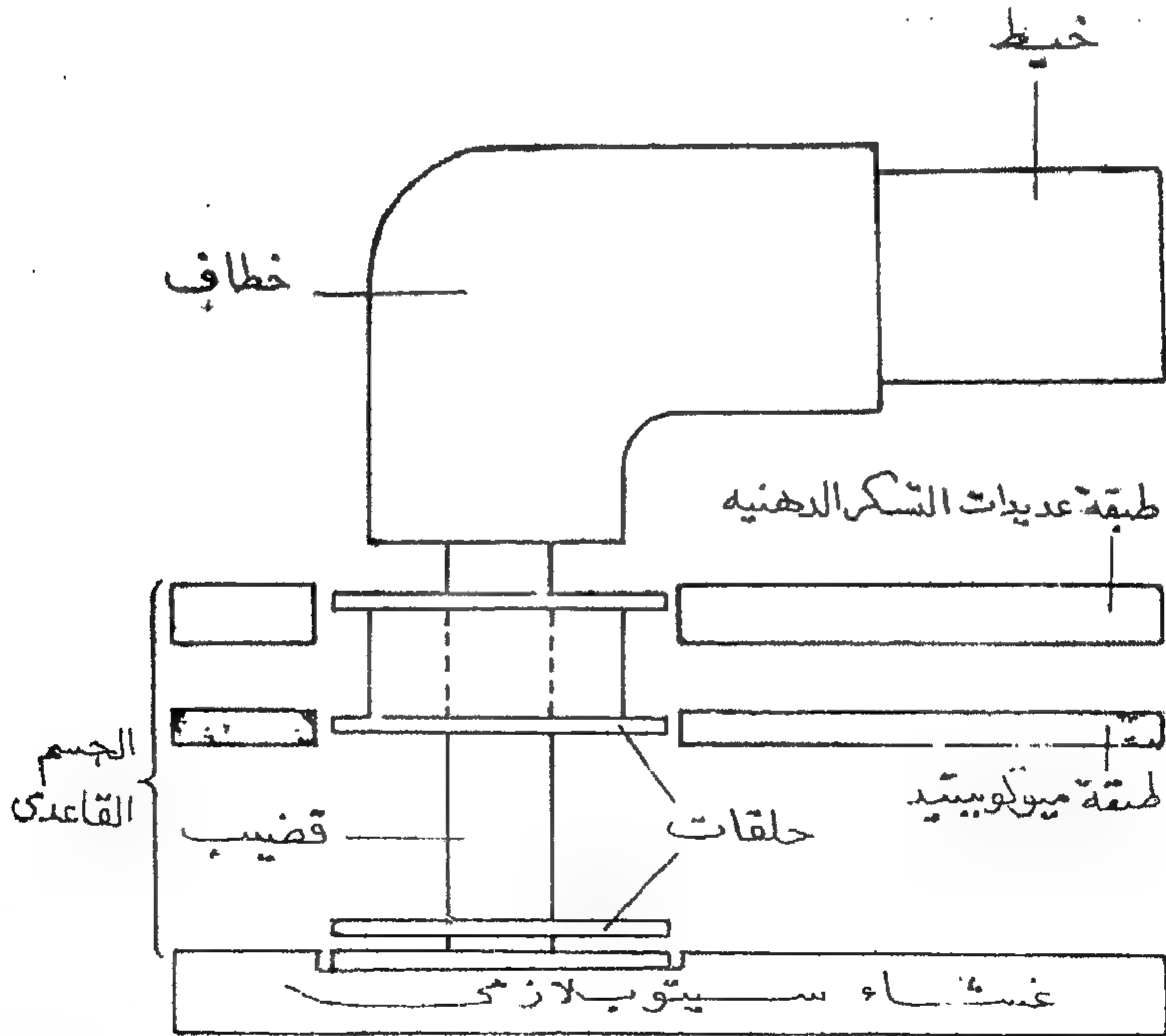
شكل ٣٤ : صورة إلكتروميكروسكوبية لبروتوبلاست خلية *Proteus vulgaris*  
تبين الأسواط المحيطة . لاحظ أن الأسواط لازالت عالقة بالبروتوبلاست رغم غياب الجدار الخلوي  
ويلاحظ أيضاً المظهر الحبيبي لل سيتوبلازم والأماكن التي تخرج منها الأسواط (X ٢١.٠٠٠)  
(عن Klieneberger - Nobel 1965)

ويؤدي حدوث اضطراب للجدار الخلوي عن طريق المعاملة بالمضادات  
الحبيوية أو بإنزيم الليزوزايم إلى تثبيط بناء الأسواط بالرغم من المنشأ  
السيتوبلازمي للأسواط .

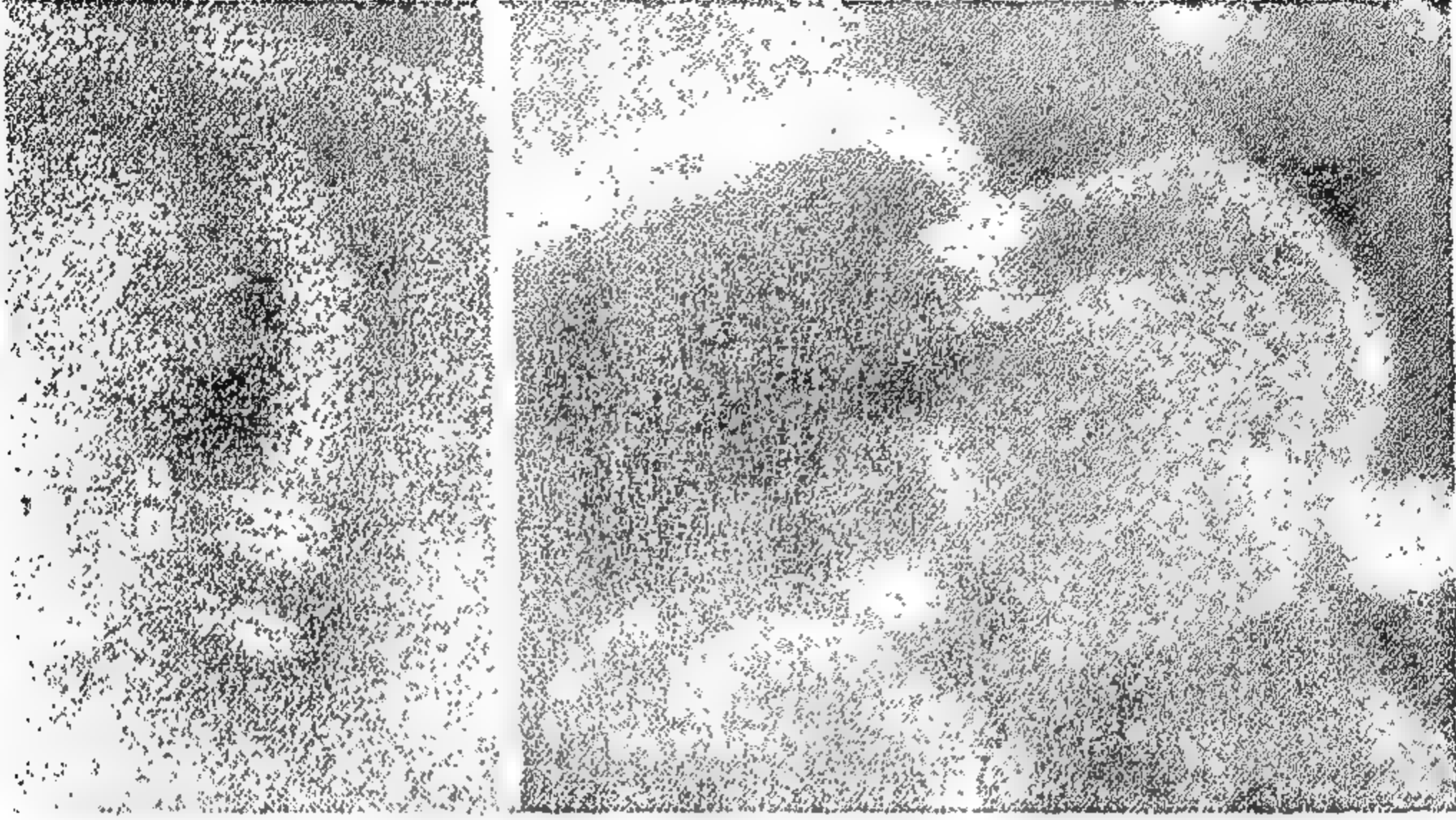


الجزء الثاني من السوط وهو الخطاف hook وهو التركيب الذي يخترق الجدار الخلوي ويصل الخيط بالجسم القاعدي Basal body والخطاف عبارة عن تركيب منحني ومن المحتمل أنه يتكون من ألياف بروتينية . وعموما فإن التركيب الكيماوي للخطاف وكذلك وظيفته لا زالت غير محددة وتحتاج إلى مزيد من الدراسة .

الجزء الثالث من السوط وهو الجسم القاعدي Basal body وهو الذي يربط الخطاف والخيط بالغشاء السيتوبلازمي . والجسم القاعدي في البكتيريا السالبة لجرام يتكون من زوجين من الحلقات يتصلان بقضيب والذي يستمر خلال الخطاف . ويعتقد أن الحلقة الداخلية لزوج الحلقات القريب من مركز الخلية ترتبط بالغشاء السيتوبلازمي ، أما الحلقة الداخلية من زوج الحلقات



شكل ٣٥ : رسم تخطيطي يبين تركيب السوط في البكتيريا *E. coli* (عن Nester et al 1978)



شكل ٣٦ : صورة إلكتروميكروسكوبية، تبين شكل الجسم القاعدي للوط (عن Levy et al. 1973)



البعيد عن مركز الخلية فرما تكون متصلة بطبقة الميورين في الجدار الخلوي والحلقة الخارجية تتصل بطبقة عديدة التسكر الدهنية في الجدار الخلوي . أما في الخلايا الموجبة لجرام فإن الجسم القاعدي يتكون من زوج من الحلقات، الحلقة القريبة من مركز الخلية تتصل بالغشاء السيتوبلازمي وغالبا لا يوجد اتصال مميز مع الجدار الخلوي .

شكل ٣٧ : يبين الشكل العام لحيط Filament الوط والذي يتكون من عدد من ألياف من البروتين الحبيبي والتي تلتوى أو تلتف معا لتكون حلزون حول مركز مجوف hollow center . (عن Levy et al. 1973)

ووجد أنه في بعض البكتيريا مثل *Spirillum serpens* يوجد غشاء قطبي polar membrane أو صفيحة قطبية polar plate داخل الغشاء السيتوبلازمي وأن الجسم القاعدي قد يتصل بهذا الغشاء القطبي .

### الحركة في البكتيريا :

يفحص البكتيريا عند حافة تحضير النقطة المعلقة\* يمكن تحديد ما إذا كانت البكتيريا متحركة أم عديمة الحركة . وتوجد طريقة بسيطة وفعالة في تحديد الحركة في البكتيريا غير الهوائية إختيارا وغير الهوائية . فعند تلقيح بيئة آجار نصف صلب تحتوي على نسبة قليلة من الجلوكوز بواسطة إبرة التلقيح ، فإن نمو البكتيريا غير المتحركة سوف يكون محدد في خط التلقيح في حين أن غير المتحركة سوف يتحرك خلال البيئة نصف الصلبة ؛ وذلك حتى تشبع إحتياجها من الجلوكوز والذي يؤدي إلى إنتشار البكتيريا خلال الآجار (شكل ٣٨) .

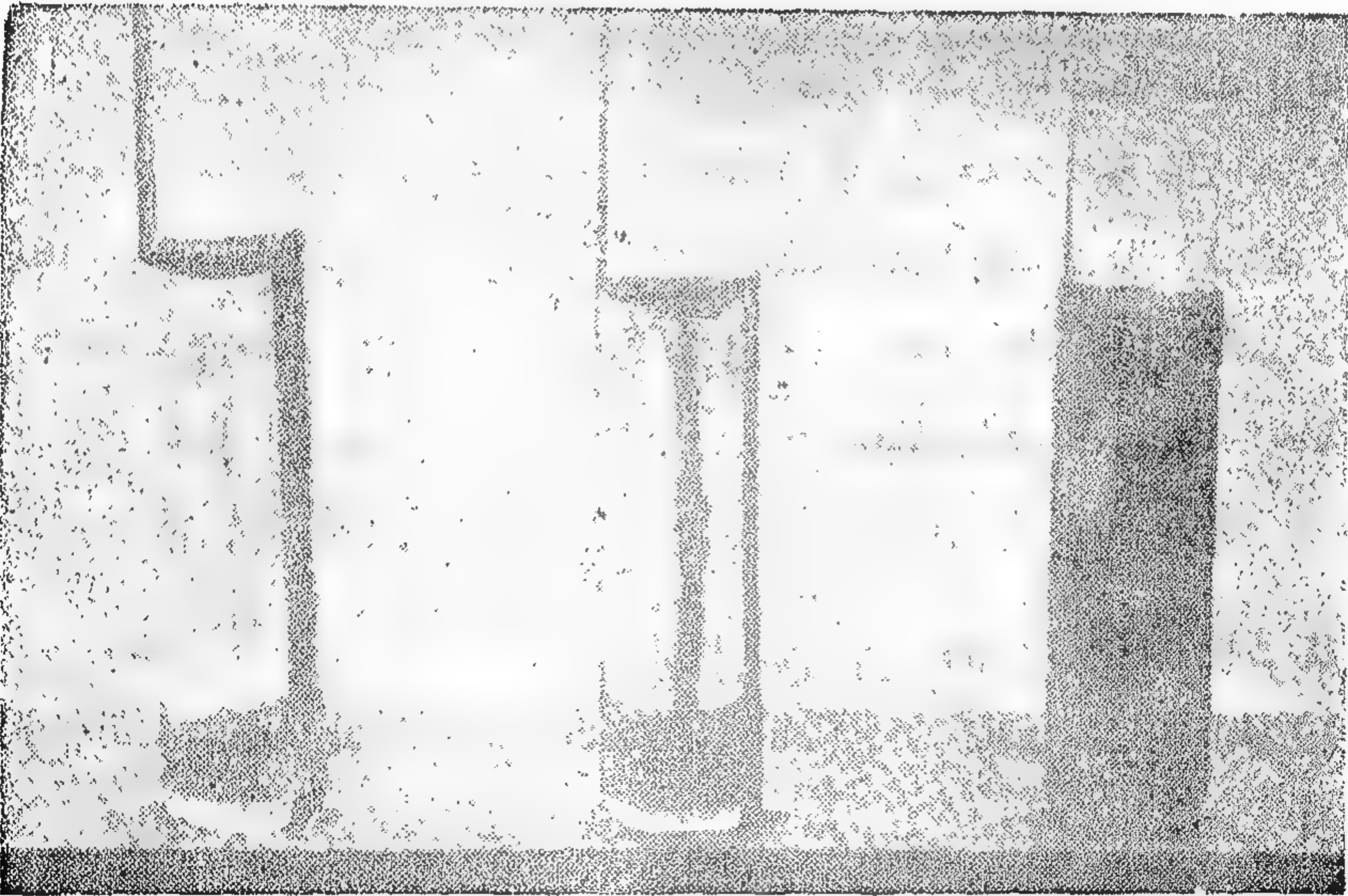
وتعتبر الأسواط هي أعضاء الحركة وهذا يبدو واضحا فعند إزالة الأسواط عن طريق معاملة الخلايا في خلاط على سرعة مرتفعة فإن الخلايا تظل حية ولكن تزال خيوط الأسواط وتفقد الخلايا القدرة على الحركة . إذا حضنت هذه الخلايا غير المتحركة في بيئة مناسبة فيعاد تخليق الأسواط وسوف تصل إلى طولها الطبيعي خلال ١٠-٢٠ دقيقة وتكتسب في هذه الحالة القدرة على الحركة مرة ثانية .

وتحرك الأسواط الخلية خلال السوائل عن طريق دفع الخلايا مثل الطريقة التي يدفع بها المحرك (الرفاص) السفينة في الماء . وإن كانت الطريقة الحقيقية التي تحرك بها الأسواط الخلية البكتيرية غير معروفة تماما ولكن يفترض أن السلاسل المكونة من جزيئات بروتينية كبيرة تنقبض وتنبسط مثل ألياف

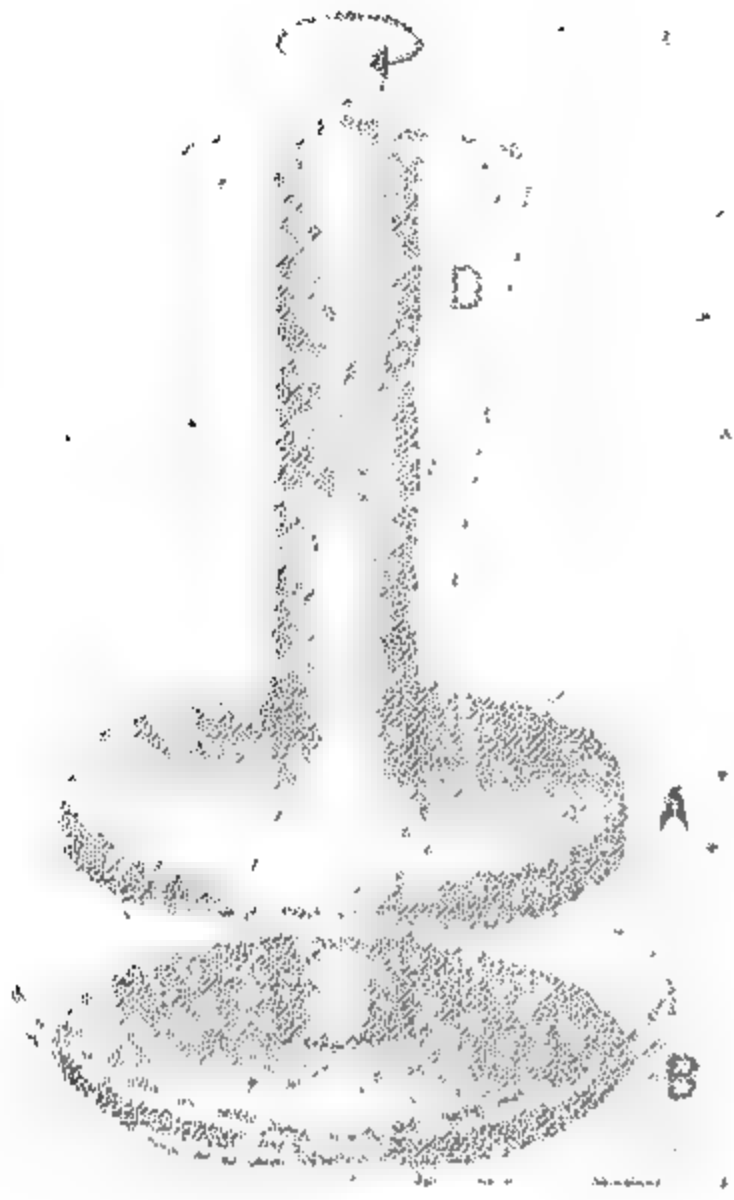


العضلة وينتج عنها حركة تشبه التموج والتي تجذب أو تدفع البكتيريا . وحديثا يوجد إقترح آخر لتفسير الحركة عن طريق الأسواط ، بإفترض أن خيط السوط يعتبر مادة خاملة وأن الحركة تنشأ نتيجة لحركة الجسم القاعدي المتصل بالغشاء السيتوبلازمي حركة دائرية من جانب إلى جانب . وأن الخطاف الذي يعتبر تركيب صلب ينقل هذه التموجات إلى الخيط ليعطي مخروط من الحركة الدائرية a cone of revolution ، وبذلك فإن دوران الخيط يدفع الخلية للحركة للأمام (شكل ٣٩ و شكل ٤٠) .

ويمكن للبكتيريا أن تنجذب تجاه المواد الغذائية أو تجاه المواد الكيماوية positive chemotaxis أو تتحرك بعيدا عن مادة كيماوية ضارة negative chemotaxis ، فإن الخلايا تستطيع أن تكتشف وجود مادة غذائية ثم تنقل هذه المعلومات إلى الأسواط وبذلك تدور لتدفع الخلية .

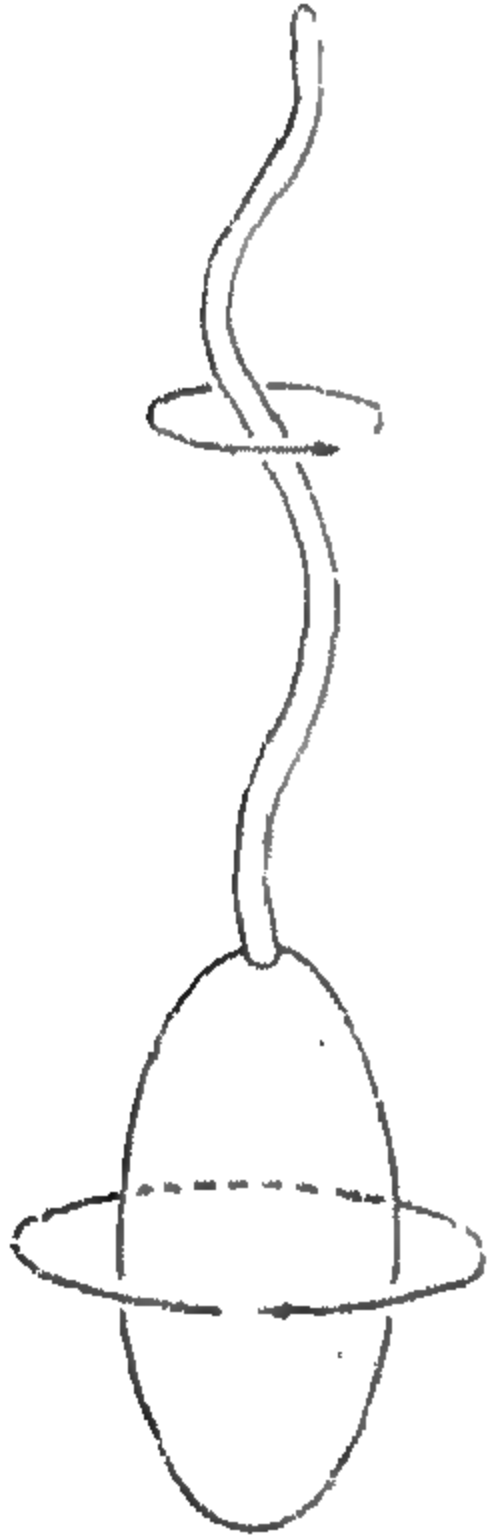


شكل ٣٨ : هذا الشكل يمثل الكشف عن حركة البكتيريا بإستعمال بيئة آجار نصف صلبة ، إلى اليسار أنبوبة بيئة غير ملقحة . في الوسط سلاله غير متحركة من البكتيريا تنمو فقط على إمتداد خط الوحز . إلى اليمين سلاله متحركة من البكتيريا تنمو بغزارة خلال البيئة (عن Levy et al. 1973) .



ومن أمثلة الإستجابة الكيماوية الموجبة الحركة في البيئة نصف الصلبة السابق الإشارة إليها فهي تعتمد على حقيقة أن البكتيريا المتحركة سوف تتحرك إلى منطقة يكون بها التركيز الأمثل من المادة الغذائية . مثل إستجابة *E. coli* إلى الجلو كوز فإن البكتيريا سوف تتحرك

شكل ٣٩ : رسم تخطيطي يبين الطريقة المحتملة لحركة السوط والتي تنشأ عن دوران الجسم القاعدي للسوط (عن Vaituzis and Doetsch 1969).



تجاه التركيز الأمثل من الجلو كوز في حين أنه عند وجود تركيز زائد من الجلو كوز فإن الكائن لن يتحرك حتى يستهلك الجلو كوز في المنطقة المحيطة به . ويلاحظ أن هذه الإستجابة تحت التحكم الوراثي فقد عزلت طفرات من *E. coli* تحتوي على أسواط كاملة ولكنها لن تتحرك تجاه الجلو كوز وأطلق عليها الطفرات البكماء *dumb mutants*

شكل ٤٠ : السوط يدفع الخلية ولاحظ أن السوط يدور في اتجاه عكس الخلية (عن Nester et al 1978)



ويقال أن هناك أماكن استقبال تحس البكتيريا بواسطتها بوجود الكيماويات ، وأماكن الإستقبال هذه عبارة عن بروتينات في الغشاء السيتوبلازمي تصاحب نشاط إنزيمات النفاذية : *permeases* ويمكن للمواد الكيماوية أن ترتبط بها ، أما عن الكيفية التي يمر بها هذا التأثير إلى الأسواط فتبدو أنها لا زالت غير معروفة .

وبالإضافة إلى الإستجابة الكيماوية فإن بعض البكتريات تستجيب إيجابيا إلى الضوء *Phototaxis* ، والبعض الآخر تستجيب إيجابيا أو سلبيا للأوكسوجين *aerotaxis* ، فالكائنات التي تحتاج إلى الأوكسوجين تتحرك تجاه الأوكسوجين والتي تنمو في غياب الأوكسوجين تبتعد عنه . وحديثا ثبت أن بعض البكتيريا المتحركة تستجيب إلى المجال السالب للأرض وتتحرك تجاه الشمال فيما يعرف بالإستجابة المغناطيسية *magnetotaxis* . وتتحرك الأسواط على سرعة مرتفعة جدا وتسبب حركة للبكتيريا على معدل يزيد عدة مرات عن طولها في الثانية وسجل أن أسواط *Spirillum serpens* تدور على معدل ٢٤٠٠ لفة في الدقيقة .

ويمكن للبكتيريا أن تتحرك عن طريق الأسواط بسرعة كبيرة جدا تصل في البكتيريا *Bacillus megaterium* إلى ٢٧ ميكرومتر في الثانية وفي البكتيريا *Vibrio cholerae* إلى ٢٠٠ ميكرون في الثانية . وفي الحالة الأخيرة يمكن القول إن الخلية البكتيرية يمكن لها أن تقطع مسافة مساوية لطولها خمسين مرة في الثانية الواحدة وهذه السرعة عالية نسبياً ، فعلى سبيل المثال لو حاول إنسان طوله ستة أقدام أن يسبح بنفس السرعة فيشترط أن يسبح ١٠٠ ياردة في الثانية الواحدة ، علماً بأن أقل وقت سجل في المباريات الأولمبية لسباحة ١٠٠ ياردة وصل إلى ٧٥ ثانية . وجدبر بالذكر هنا أيضاً أن الخلية البكتيرية تستهلك فقط ١٪ من نشاطها لغرض الحركة بمعنى أنها لا تبذل مجهوداً كبيراً لتأدية مثل هذه الحركة السريعة نسبياً .

حركة البكتيريا التي تفتقر للأسواط :

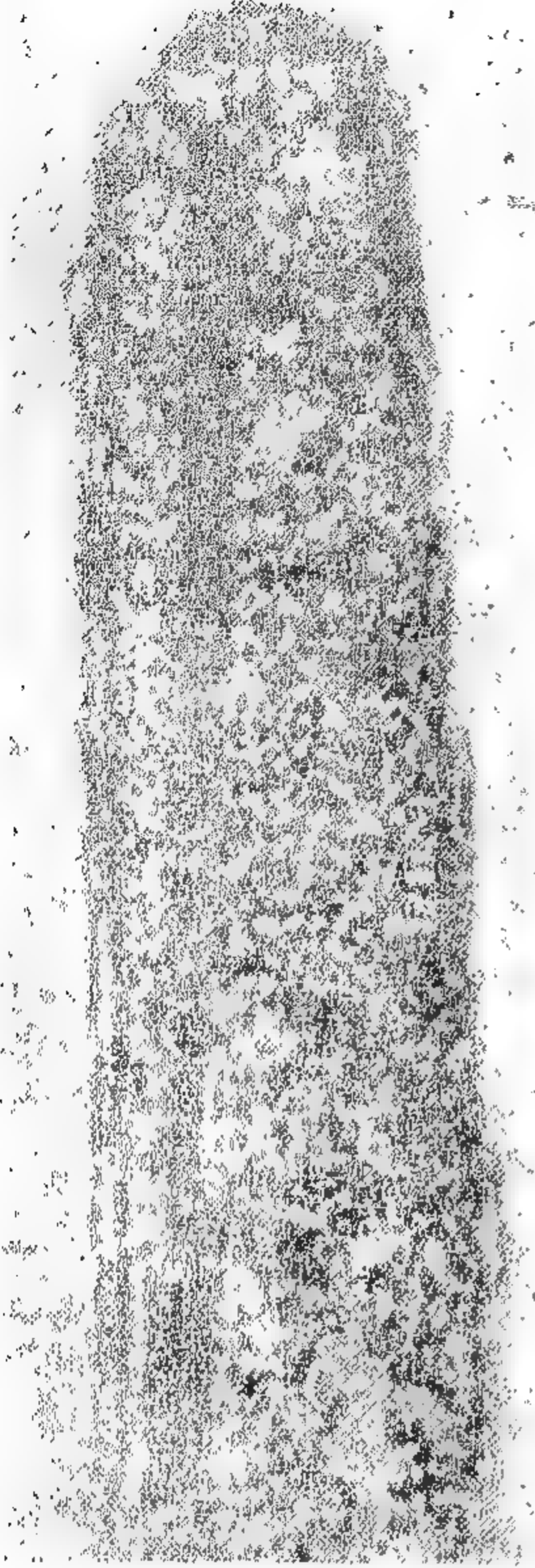
الحركة الانزلاقية : Gliding movement

يتميز بهذا النوع من الحركة أفراد البكتيريا الهلامية *Myxobacteria* وأفراد الجنس *Beggiatoa* ، ويتم الحركة رغم أن هذه البكتيريا لا تحمل أعضاء معينة لتأدية هذه الحركة الإنزلاقية . ومن الملاحظ أن هذه الحركة تحدث فقط فوق السطوح الصلبة ولا تحدث في البيئات السائلة ، ولكنها قد تحدث على السطوح المائية المعرضة للهواء air-water interface .

وقد ترجع الحركة في هذه البكتيريا إلى الانقباضات التوجيهية oscillation والتي تحدث عندما يكون المحيط المتعدد الخلايا متصلاً بجسم صلب . وقد تم الحركة نتيجة للانقباضات التي تحدث لطبقة البروتوبلازم الرقيقة الموجودة تحت الجدار . وهناك تفسيراً آخر لحركة هذه الكائنات يعتمد على قدرة خلاياها على إفراز كميات قليلة من المواد الهلامية ، وقد أمكن إظهار مثل هذه المواد الهلامية حول خيوط هذه الكائنات عند معاملتها بمحلول من الحبر الهندي . وقد حاول كثير من العلماء تفسير هذه الحركة على أساس وجود هذه المواد الهلامية ، إلا أن البعض الآخر يميل إلى الاعتقاد أن إفراز المواد الهلامية ما هو إلا نتيجة للحركة وليس السبب في حدوثها . ويعتقد أن الخلايا تتحرك وهي داخل غلاف envelope من المواد الهلامية . وقد اقترح البعض أن بعض البكتيريا الهلامية تتحرك بواسطة أعضاء للحركة موجودة داخل الخلية وهذه الأعضاء عبارة عن لويقات fibrils وقد يكون لها إتصال بنقط طرفية وتمتد هذه اللويقات على إمتداد الخلية (شكل ٤١) ، وعموماً فإن آلية الحركة في هذه الكائنات غير معروفة تماماً .

حركة الإسبيروكيئات Spirochaetes

الإسبيروكيئات بكتيريا وحيدة الخلية وجدارها مرن وخليزونية والخلية تتكون من إسطوانة بروتوبلازمية تضفر intertwined مع واحد أو أكثر من اللويقات المحورية axial fibrils ، والتي تنشأ من أقراص



تحت طرفية توجد عند كلا طرفي  
الإسطوانه البروتوبلازمية . اللويقات  
المحورية تماثل الأسواط في تركيبها وهي  
تمتد بين طبقتين هما جدار الخلية وغلاف  
sheath خارج الخلية وهذا الغلاف يغطي  
اللويقة ويتكون من مواد الجدار الخلوى .  
كما أن هذا الغلاف يميل لأن ينفصل بسهولة  
عن الجدار . الأطراف غير المتصلة لهذه  
اللويقات المحورية قد تمتد خارج طرف  
الإسطوانه البروتوبلازمية معطية مظهر  
الأسواط الطرفية الكاذبة . وعادة تلتف  
اللويقات المحورية فوق بعضها في الجزء  
الوسطى من الخلية .

شكل ٤١ : صورة تبين الألياف الموجودة في داخل البكتيريا الهلامية Myxobacteria  
(عن Levy et al. 1973).

واللويقات المحورية تعتبر أعضاء الحركة في الإسبيروكيتات و كما هو  
الحال في الأسواط فإن الأساس الجزيئى لحركة اللويقات المحورية غير واضح  
تماما حتى الآن .

وتحدث الحركة التقدمية عن تموجات على طول الكائن . وأنه يحدث  
أيضا دوران Spinning على طول المحور الطولى للخلية . وشوهدت أيضا  
حركة دودية .



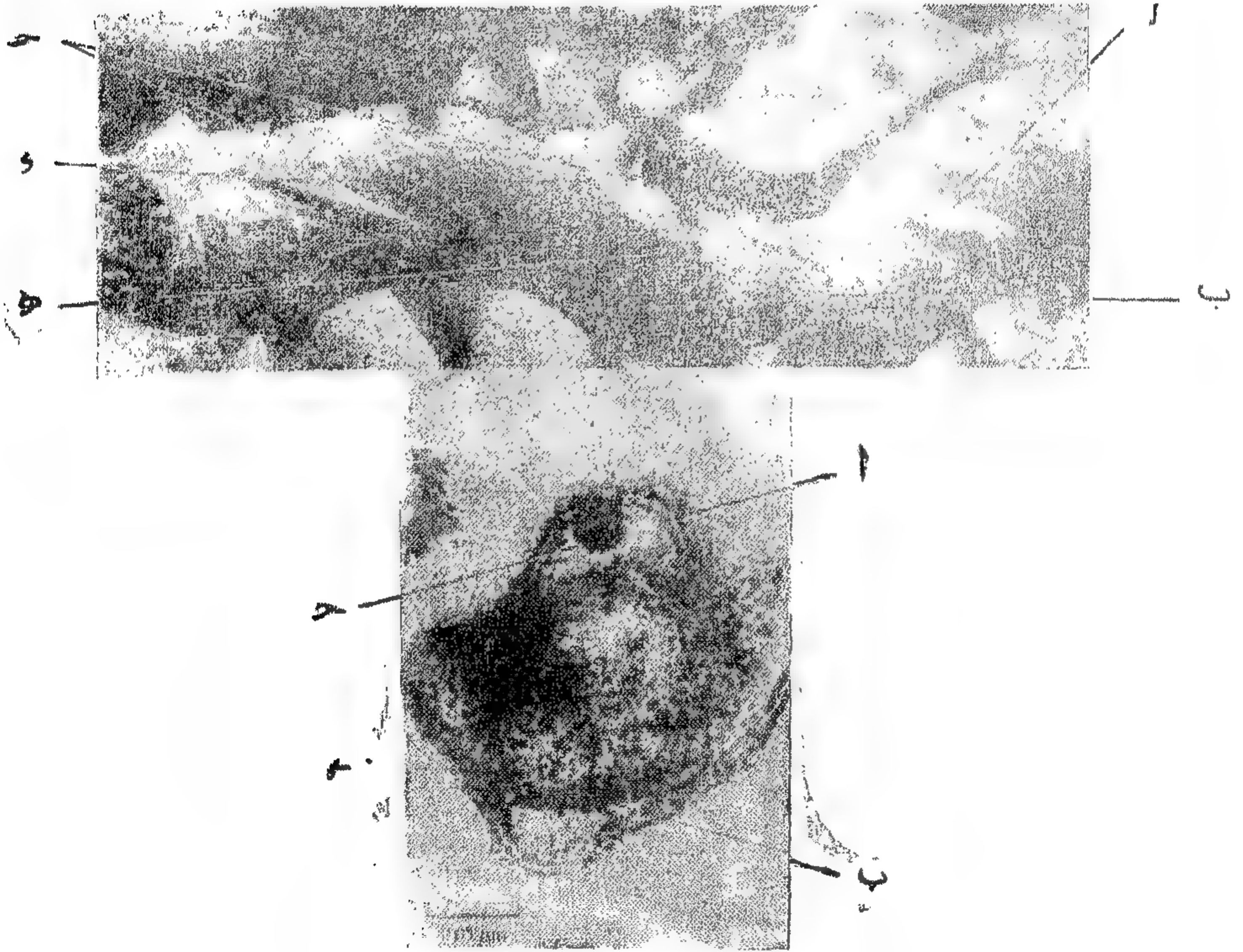
وقد وصفت في هذه الكائنات ثلاثة طرز من الحركة :

١ - حركة دائرية سريعة على طول محور الخلية .

٢ - حركة دودية flexion .

٣ - تحرك الخلية نفسها بطريقة تشبه حركة بريمة نزع السدادات .

وقد تحمل بعض البكتيريات زوائد أخرى تختلف عن الأسواط منها :



شكل ٢ : الصورة العليا : صورة إلكتروميكروسكوبية لخلية من الأسبيروكيئات تنتمي الجنس *Leptospira* تين أ - لويقة محورية مغطاة بالغلاف ، ب - الغلاف ، ج - جسم الخلية . د - لويقة محورية عارية ، هـ - جدار الخلية .

الصورة السفلى : صورة إلكتروميكروسكوبية لقطاع عرضي لخلية تابعة للجنس *Leptospira* تين : أ - الغلاف ، ب - الجدار الخلوي ، ج - اللويقة المحورية . (عن Nauman et al.1969)

### زوائد البيللى : Pili

تمتلك كثير من البكتيريا السالبة لجرام (ويبدو أيضا أن نوع واحد من الموجبة لجرام) زوائد خيطية غير الأسواط وهى أقصر وأكثر عددا من الأسواط وتكون غير متموجة وهى تظهر بالميكروسكوب الإلكتروني . وتسمى هذه الزوائد بالبيللى Pili (مفرد pilus) أو الفمبريا Fimbriae (شكل ٤٣) وهى تظهر فى البكتيريا المتحركة وغير المتحركة ولذلك فليس لها علاقة بالحركة . والبيللى pili تغطى سطح الخلية بأعداد تصل لعدة مئات (٢٥٠ - ٣٠٠) . وأن قطر الـ pili قد يكون أكبر من قطر الأسواط ولكن فى المعتاد أقل من قطر الأسواط (٧ nm) . وهى مثل الأسواط تتكون من وحدات من البروتين تلتف حول تجويف محورى . وبعض الأنواع ذكر أنها من بروتين يسمى pilin . كما أنها يمكن أن تزال من الخلايا بالرج عن طريق خلط دون أن يؤثر ذلك فى حيوية الخلايا .

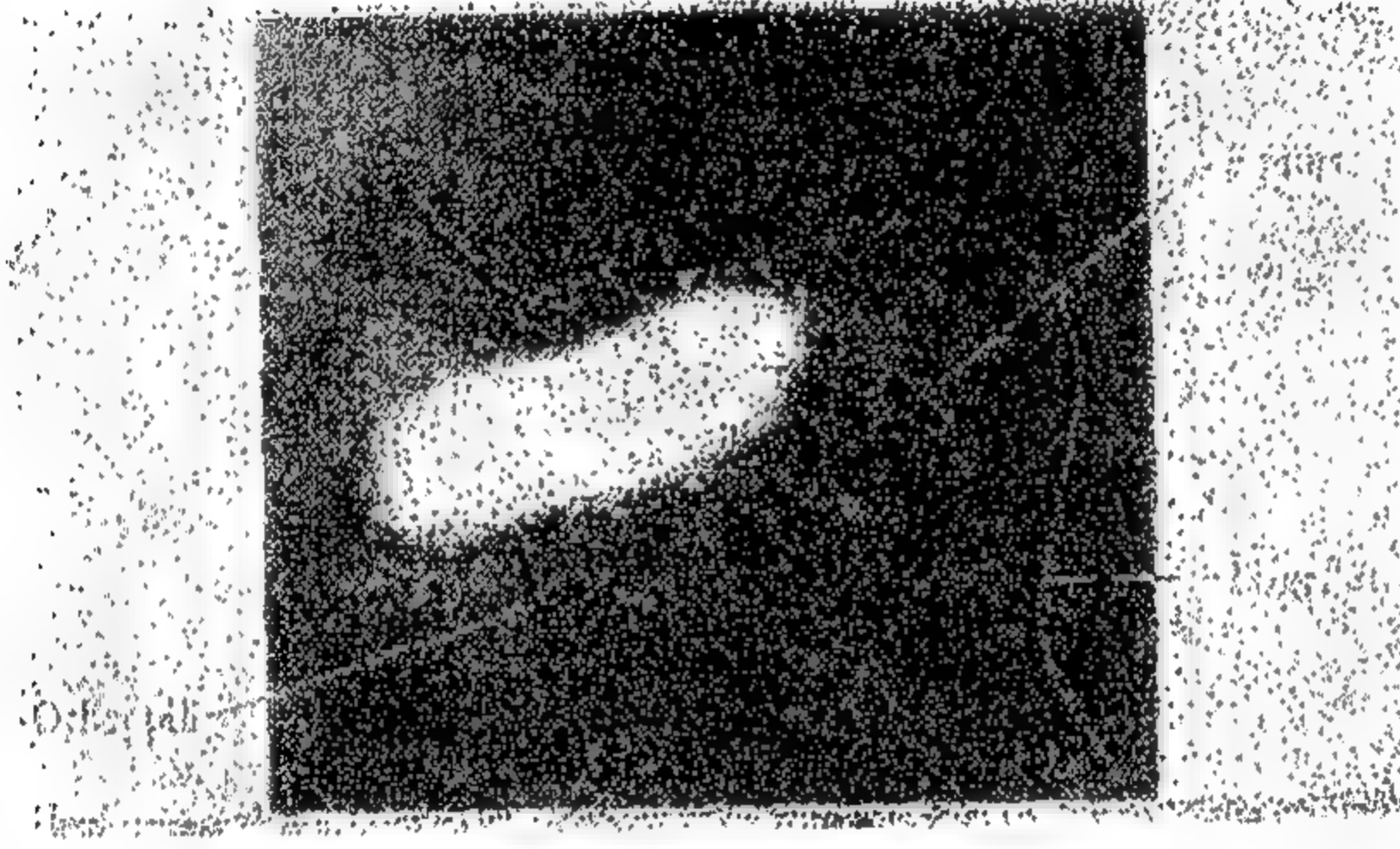
ويمكن تقسيم البيللى إلى عدد من الطرز بناء على وظيفتها . فمثلا الـ F-pili (sex - pili) ، فتوجد فى البكتيريا *E. coli* وعددها يكون قليل ١ أو ٢ فى الخلية الواحدة . ويعتقد أنها هامة لتصبح الخلية معطية للمادة الوراثية فى التكاثر الجنسي فى البكتيريا . وهى تختفى عندما يزال العامل F وتعود للظهور عندما يوجد العامل F مرة أخرى . أى أن الإبيسوم (episome) ، الذى يتحكم فى الخصوبة الوراثية يتحكم أيضا فى إنتاج الـ F-pili . ويعتمد نقل الكروموسوم من خلية لأخرى أثناء التزاوج على وجود F-pili . وإن كان من غير المعروف على وجه اليقين أن انتقال الكروموسوم من الخلية المعطية (الواهبية) إلى الخلية المستقبلة يكون خلال الـ pilus . ومن المحتمل أن الـ pilus يكون ضرورى فقط فى تقارب أو تصاحب الخليتين أثناء التزاوج .

ويعتقد أن أنواع أخرى من البيللى قد تكون أعضاء للإلتصاق فـإن سلالات البكتيريا التى تمتلك البيللى يكون لها صفه الإلتصاق بالخلايا الحيوانية



والنباتية، وكذلك السطوح الحاملة مثل السليلوز أو الزجاج . وقد يكون لها صفه تثبت نفسها إلى الأنسجة الحيوانية التي يمكن أن تحصل منها على الغذاء .

وتوجد أيضا علاقه بين قدرة سلالات *Neisseria gonorrhoeae* لتسبب السيلان ووجود البيللي ، فتلتصق خلايا السلالات التي تمتلك البيللي بسهولة لكثير من أنواع الخلايا ذات النواة الحقيقية . ويبدو أن هذا الإلتصاق ضروري لتكشف المرض نظرا لأن السلالات التي لا تمتلك البيللي تفشل في إحداث المرض .



شكل ٤٣ : البيللي pili الخاصة بالبكتيريا *Escherichia coli* . لاحظ أن السوط flagellum يعتبر أطول من الـ F - pili وكذلك الـ pili لأخرى other pili (x 11980) (عن Nester et al 1978) .

## المراجع

- Bisset, K.A. 1955. The Cytology and Lifehistory of Bacteria, 2nd. Ed. Lingstone, Edinburgh.
- Duguid, J.P., Smith, G. Dempster, and P.N. Edwards. 1955. J. Pathol. Bacteriol. 70 : 335.
- Houwink. A.L., and Van Iterson, W. 1950. Biochim. Biohys. Acta 5:10-44.

- Klieneberger - Nobel, E. 1965. Focus on Bacteria. Academic Press, London and New York 145 p.
- Leifson, E., S.R. Carbart and M. Fulton. 1955. J. Bacteriol. 69 : 73.
- Leifson, E. 1931. J. Bacteriol. 12:331.
- Leifson, E. 1960. Atlas of Bacterial Flagellation. Academic Press, New York and London 171 p.
- Levy, J., J. J. R. Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory. Microbiology. John Wiley and Sons, INC, New York. 684 p.
- Nauman, R.K., S.C. Holt, and C.D. Cox. 1969. J. Bacteriol 98 : 264
- Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. Micarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York. 769 p.
- Mitchell, P. 1956. Proc. Roy. Phys. Soc. Edinburgh 25:32.
- Pijper, A. and A.J. Nunn. 1949. J. Roy. Microscop. Soc. 69 : 138.
- Pijper, A.M.L. Nester and G. Abraham. 1956. J. Gen Microbiol. 14 : 371.
- Stocker, B.A.O. 1955. Symposium Soc. Gen. Microbiol. 6 : 19.
- Stocker, B.A.O. J. Pathol. Bacteriol. 37 : 314.
- Thimann, K.V. 1960. The Life of Bacteria. MacMillan Co. New York, 3ed printing, 775 p.
- Vaituzis, Z. and R.N. Doetsch. 1969. J. Bacteriol. 100 : 512.
- Weibull, C. 1953. J. Bacteriol. 66 : 656.
- Weibull, C. 1960. Movement in The bacteria vol. I. (J.C. Gunsalus and R.Y. Stanier: eds.) Academic press. N.Y. and London.

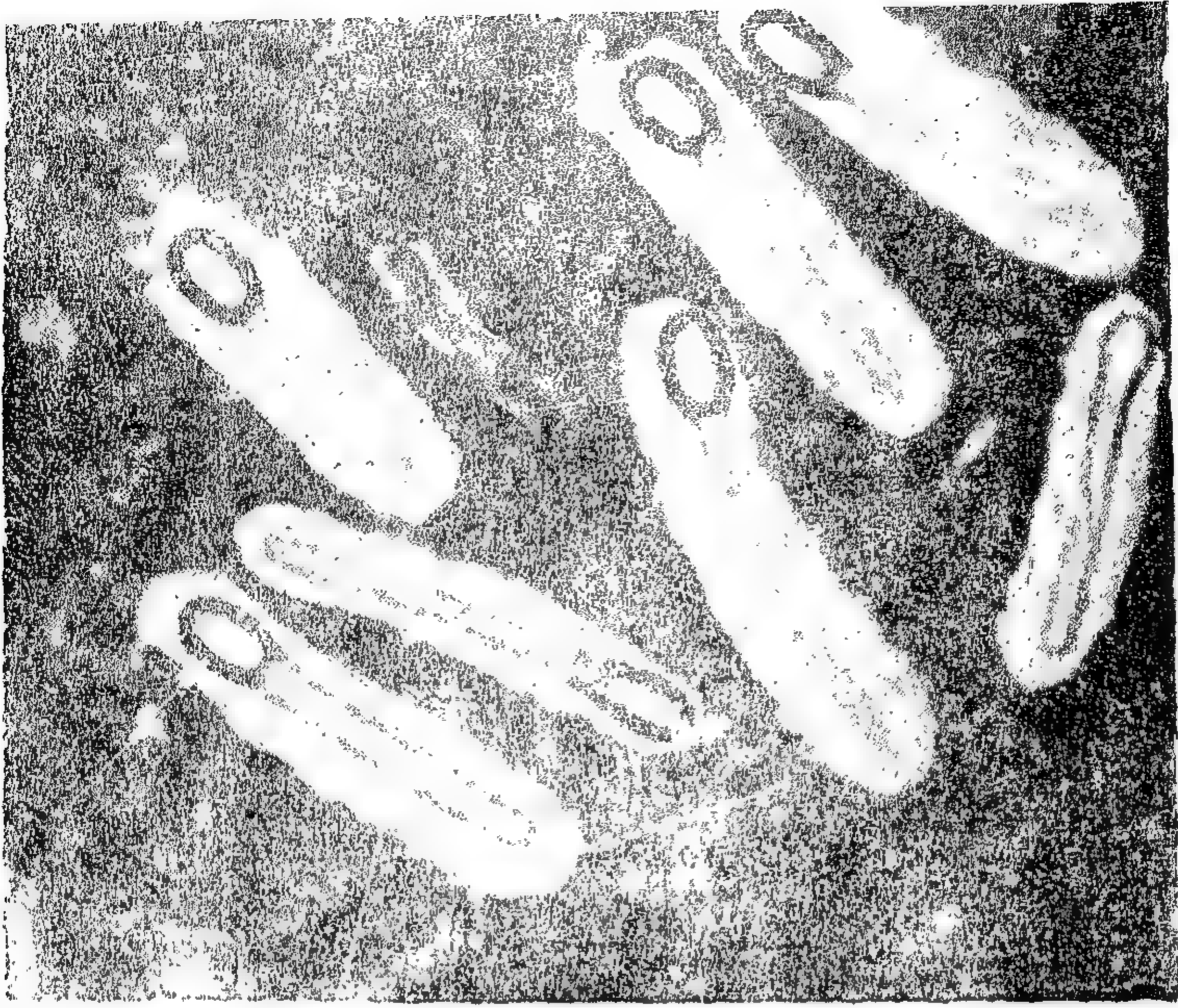
## الفصل الرابع

### الجراثيم الداخلية Endospores

بعض البكتيريا العصوية المستقيمة من جنس *Bacillus* و *Clostridium* (شكل ٤٤) لها القدرة على إنتاج جراثيم داخلية ، جرثومة واحدة بكل خلية. كما وأن بعض البكتيريا الكروية *Sporosarcina* يمكنها أيضا إنتاج هذا النوع من الجراثيم. ويلاحظ أنه توجد بكتيريا أخرى كبيرة الحجم نسبيا تكون جراثيم داخلية ، وهي تعيش في المحتويات المعوية للحيوانات . فشاهدت أجساما بيضية كبيرة الحجم تشبه الجراثيم الداخلية في خلايا خيوط *trichomes* البكتيريا *Oscillospira guilliermondi* ، والتي تعيش في أجسام أرانب التجارب والخيوط تتحرك بسرعة بأسواط جسمية ، وغالبا تتكون بالخلية الواحدة جرثومتان أو أكثر . وقد لوحظ أيضا في البكتيريا *Metabacterium polyspora* ، والتي تعيش في أمعاء الحيوانات الصغيرة مثل الفئران والأرانب وخنازير غينيا أن كل خلية خضرية بها عدد من الجراثيم قد تصل إلى ٨ جراثيم (شكل ٤٥) .

وكما ذكرنا فإن البكتيريا المتجترمة التابعة للجنس *Bacillus* ، والجنس *Clostridium* ، تكون جرثومة واحدة لكل خلية خضرية وهذا لا يعتبر تكاثرا ، أما إذا تكونت أكثر من جرثومة في الخلية الواحدة كما في بعض الأجناس مثل *Metabacterium* فيمكن اعتبار ذلك نوعا من التكاثر . والبكتيريا المتجترمة لها القدرة على تحويل نفسها إلى أجسام بيضية أو كروية تعرف بالجراثيم الداخلية *Endospores* وذلك لوجودها بداخل الخلية . وتتميز هذه الجراثيم بقدرتها الفائقة على كسر الضوء ومقاومتها للصبغ بصبغات الأنيلين القاعدية والتي تصبغ الخلايا الخضرية بسهولة ولذلك فإن لها طرقا خاصة لصبغها . وللجراثيم الداخلية خواص فسيولوجية مميزة مثل مقاومتها للظروف البيئية غير الملائمة للخلايا الخضرية كمقاومتها للحرارة





شكل ٤٤ : خلايا البكتيريا *Clostridium pectinovorum* ، لاحظ إزدیاد حجم الخلية عند موضع الجرثومة الطرفی . لاحظ زیادة إفراز الخلیا لطبقة الغلاف والتي تتكون من عديدات الببتید . (عن Gunsalus and Stanier 1961).



شكل ٤٥ : صورة ميكروسكوبية لخلايا البكتيريا *Metabacterium polyspora* الكبيرة الحجم والتي تحمل كل منها عديد من الجراثيم الداخلية ( $\times 3800$ ) . (عن Gunsalus and Stanier 1961)



العالية وبعض الإشعاعات ذات الموجات القصيرة والتركيزات المرتفعة نسبيا من المواد الكيماوية السامة ، وكذلك مقاومتها للجفاف وقدرتها على السكون dormancy لمدة طويلة . وبعض الجراثيم الداخلية مقاومة للحرارة المرتفعة فيلزم لتعطيمها حرارة تصل إلى ١٢٠ م (بخار تحت ضغط) لمدة ٣ ساعات ، إلا أن معظم أنواع الجراثيم تقتل بالحرارة الرطبة عند ١١٥-١٢٠ م لمدة ١٥-٢٠ دقيقة وقليل من جراثيم الأنواع المتجرّثة تقتل بالغليان لمدة قصيرة كما أن منها ما تقتل بالتعريض إلى ٥٨-٦٠ م لمدة ٣٠ دقيقة .

وعموما فإن الجراثيم يمكن إعتبارها مرحلة ساكنة للخلية الأم Dormant phase (resting) . وهى تستطيع أن تعيش لعشرات السنين فى غياب مصدر غذائى خارجى نظرا للانخفاض الشديد أو لإنعدام نشاطها الأيضى . وعندما يتوفر للجراثيم وسط غذائى مناسب فإنها تنبت وتتكون خلية خضرية عادية قادرة على النمو والإنقسام الحلوى .

ومقاومة الجراثيم للحرارة تتيح الفرصة لعزل البكتيريا المتجرّثة بطريقة إنتخابية من المصادر الطبيعية ، وذلك عن طريق بستره محاليل مائية من المصدر الطبيعى وهذا يقضى على الخلايا الخضرية تاركا الجراثيم .

وفيما يلى الخواص الهامة للأجناس البكتيرية التى تكون جراثيم داخلية :

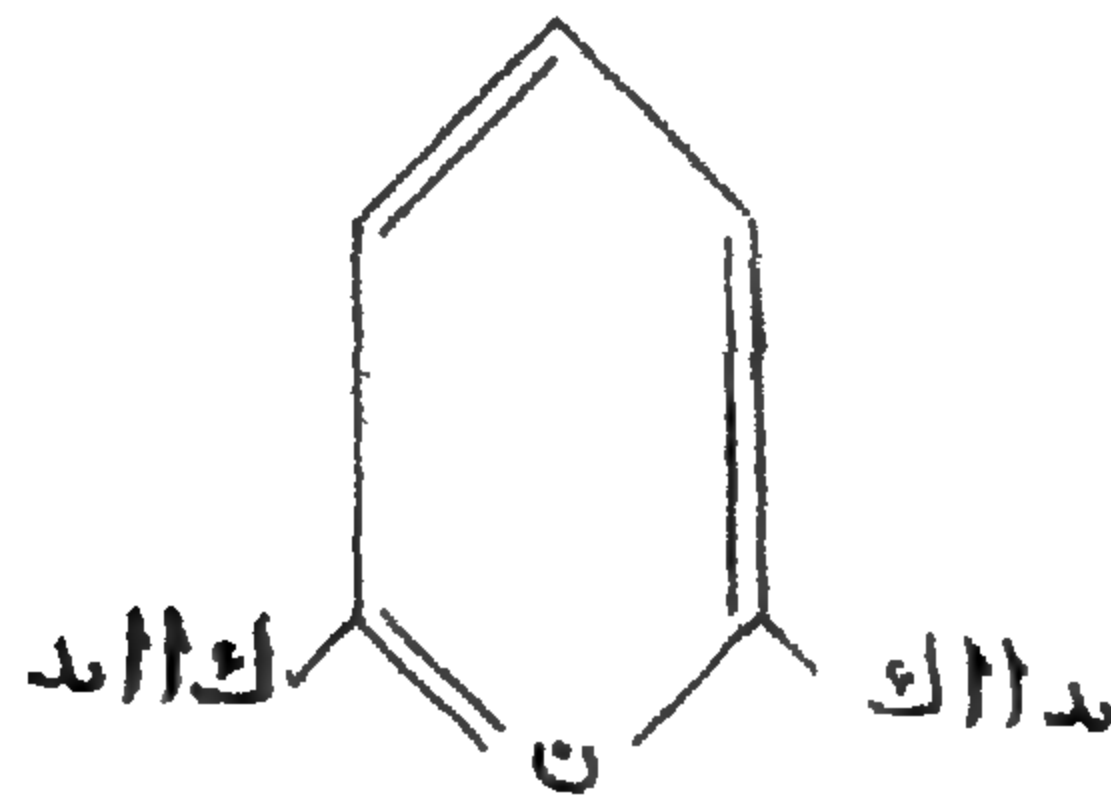
الجنس	شكل الخلايا	علاقتها بالأكسوجين
<i>Bacillus</i>	عصويات	هوائى أو غير هوائى إختيارا
<i>Clostridium</i>	عصويات	معظم السلالات غير هوائية .
<i>Sporolactobacillus</i>	عصويات	تتطلب ضغط منخفض مسن الأكسوجين Microaerophilic
<i>Desulfotomaculum</i>	عصويات أو عصويات منحنية	غير هوائى إجبارا
<i>Sporosarcina</i>	كرويات (وهى متحركة أيضا)	هوائى إجبارا

### التركيب الداخلى للجراثيم :

إذا أجريت قطاعات غاية فى الرقة ultra - thin sections فى أحد الجراثيم وفحصت بالميكروسكوب الإلكتروني (شكل ٤٦ وشكل ٤٧) يظهر فيها التراكييب الآتية من الداخل إلى الخارج .

الخلية الجرثومية germ cell : تحتوى على سيتوبلازم الجرثومة وعادة تحتوى على كروموسوم واحد وبعض الريبوسومات والإنزيمات ويحاط بغشاء داخلى inner membrane .

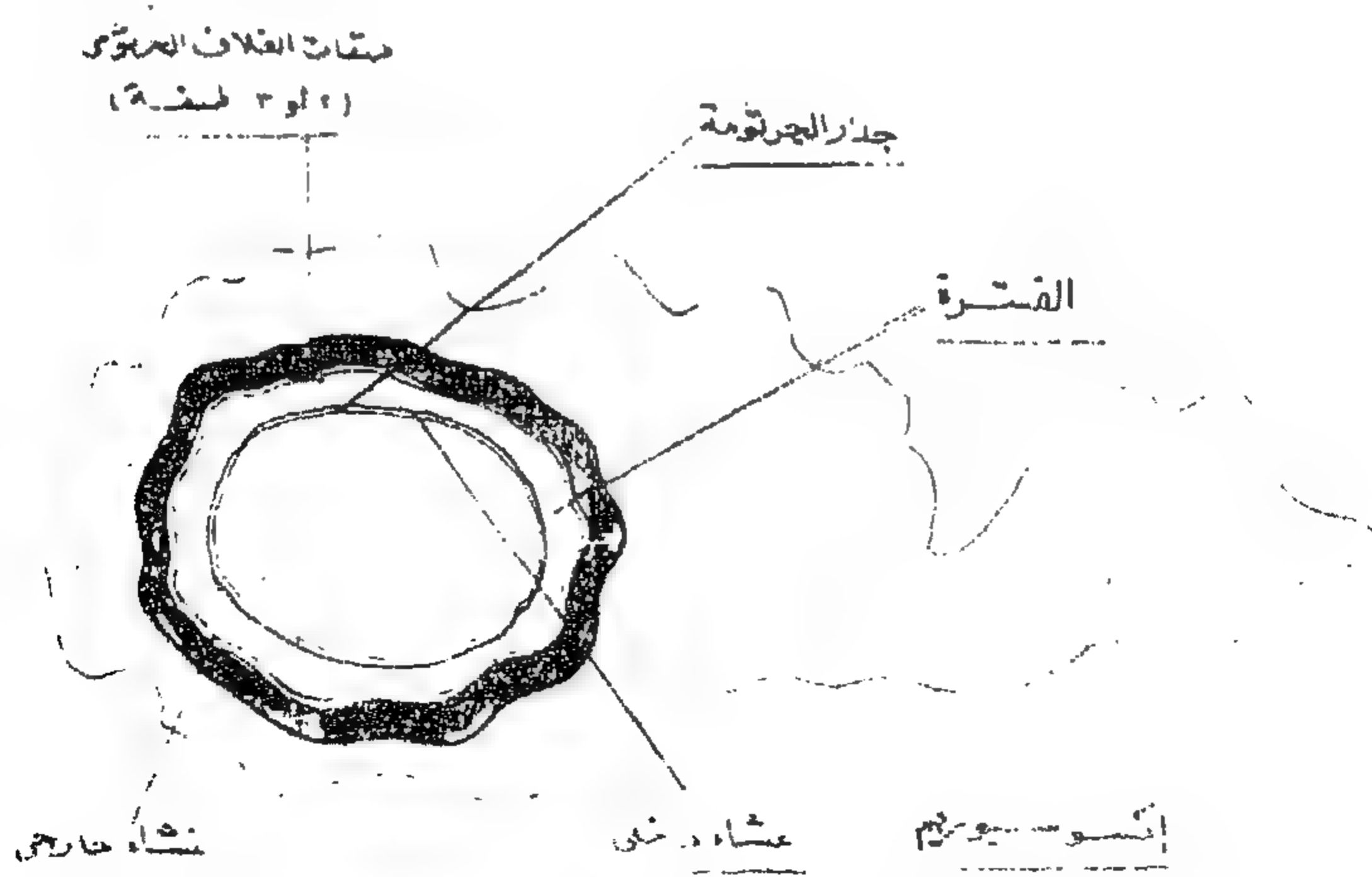
جدار الجرثومة spore wall : وتركيبه من الميوكوببتيد . وهذا الجدار سيصبح الجدار الخلوى للخلية الخضرية الجديدة عند إنبات الجرثومة .  
القشرة cortex : وتكون نصف حجم الجرثومة وتحتوى على داي بيكولينات الكالسيوم Calcium dipicolinate مختلطة بالميوكوببتيد : وهذا الخليط يمكن تحللة بإنزيم الليزوزايم . وطبقة القشرة هى التى تمنح الجرثومة المقاومة للحرارة لإحتوائها على تركيز عالى من ملح الكالسيوم المذكور بنسبة تتراوح بين ٢-١٥٪ من الوزن الجاف للجرثومة . ويلاحظ أن كل الجراثيم تحتوى على كميات من حمض الداى بيكولينيك فى حين أن هذه المادة لا توجد فى الخلايا الخضرية . وكذلك توجد كمية كبيرة من الكالسيوم فى الجراثيم . ويبدو أن بناء هذا الملح المعقد يتم خلال المراحل المتقدمة من تكشف الجرثومة .



حمض الداى بيكولينيك



شكل ٤٦ : قطاع طولى فى جرثومة البكتيريا *Bacillus cereus* محاطة بأكسوسبوريم كبير ( exsp ) . يلاحظ أن الغلاف الجرثومى ( coat ) ضيق ومجمد ويحيط بالقشرة ( ctx ) .



شكل ٤٧ : رسم تخطيطى لقطاع عرضى فى جرثومة يبين التراكيب المختلفة للجرثومة .

الغشاء الخارجى outer membrane : وهو غشاء يحيط بالقشرة من الخارج .

الغلاف الجرثوى spore coat : يعطى للجرثومة شكلها وقد يظهر على سطح الغلاف تجاويف أو أخاديد طويلة أو عرضية أو إنخفاضات عميقة تبعا لنوع البكتيريا المتجرثمة (شكل ٤٨ وشكل ٤٩) . والغلاف قد يتكون من طبقتين أو ثلاث طبقات وهو يحمى الجرثومة من فعل الإنزيمات المحللة . ويتركب الغلاف بطبقاته من عديد الببتيد والبروتين المقاوم لفعل الإنزيمات المحللة للبروتين وكذلك الليزوزايم . ويلزم وجود السيستين cystine في البيئة لتخليق الغلاف الجرثوى .

الإكسوسبوريم exosporium هو طبقة أو تركيب خارجي تظهر في شكل غشاء رقيق قد يكون ملاصق للجرثومة أو سائبا وغير ملاصق لها وهو غير منفذ لكثير من المركبات ويحتوى على بروتين دهني lipoprotein وكذلك سكريات أمينية .

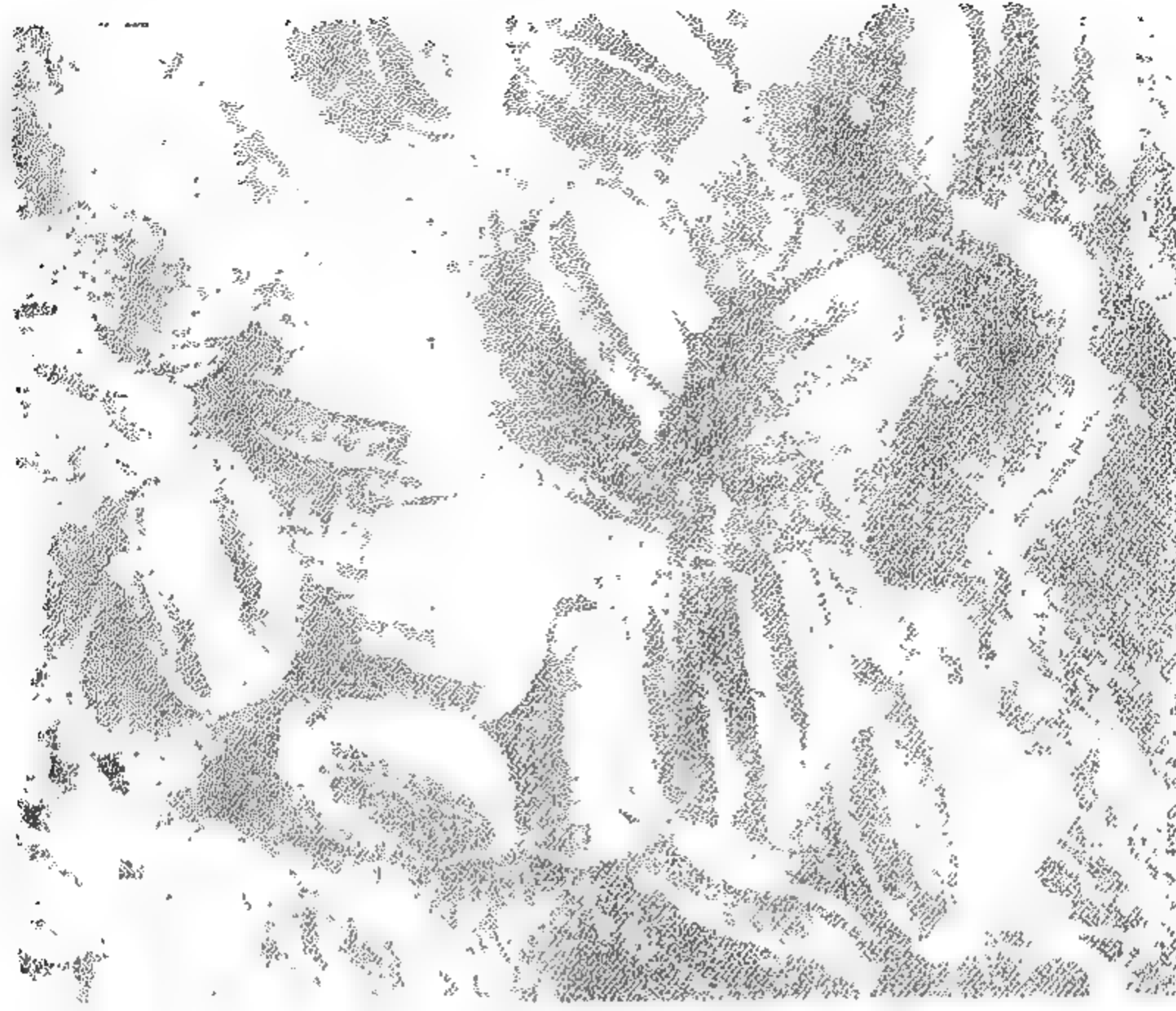
#### موضع الجرثومة من الخلية :

الجراثيم الناضجة mature spores تكون عادة كروية أو بيضية ويلاحظ أن موضع وجود الجرثومة بالنسبة للخلية الخضرية التي إشتقت منها يختلف في البكتيريا المتجرثمة ، فقد تكون في الطرف terminal أو في الوسط أو المركز Central أو تحت طرفية Subterminal ( شكل ٥٠ ) . كما أن قطر الجرثومة قد يكون أكبر أو أصغر من قطر الخلية الخضرية وسمك جدر الجرثومة قد يختلف أيضا باختلاف الأنواع . وكل ذلك من الصفات الهامة التي تستعمل في تقسيم الجنس (مثل الجنس Bacillus ) إلى أنواع مختلفة .

#### خطوات تكوين الجراثيم الداخلية :

إن عملية تكوين الجراثيم (شكل ٥١) تحدث على عدة خطوات ويبدو





شكل ٤٨ : صورة الكتروسيكروسكوبية تبين بعض جراثيم البكتيريا *Bacillus polymyxa*. لاحظ  
التجاويف الطولية المتوازية والتي تميز سطحها الخارجي. (عن Klieneberger-Nobel 1965) (X ٦٢٥٠٠)



شكل ٤٩ : صورة بالميكروسكوب الإلكتروني لجراثيم البكتيريا *Bacillus megaterium*  
يلاحظ نظام الإرتفاعات والإنخفاضات الموجود على سطح الجراثيم والذي يشبه الحد ما العيون السداسية  
في أقراص عسل النحل .

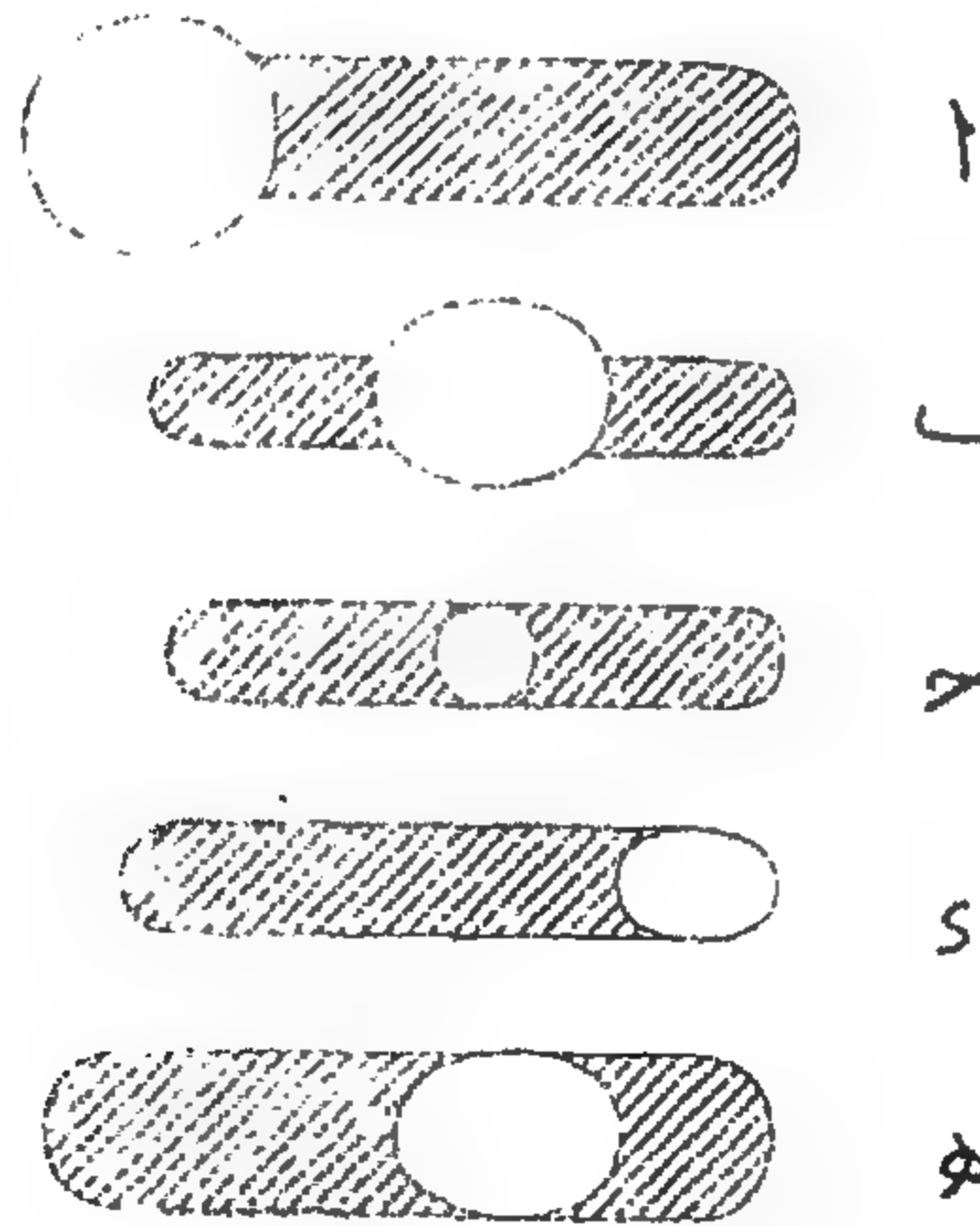
أن الوقت الكلى لتكوين الجراثيم يستغرق تقريبا ٨ ساعات . ويلاحظ أنه لا يحدث تكرار كروموسومى خلال عملية التجرثم وهى بذلك تختلف عن إنقسام الخلية . وفيما يلى وصفا مختصرا لهذه الخطوات :

١ — يتحول الـ DNA إلى خيط طويل وهذا الخيط يتصل بالغشاء الخلوى بواسطة الميزوسوم .

٢ — ينفصل الـ DNA إلى كروموسومات فردية أحدهما يذهب إلى طرف الخلية .

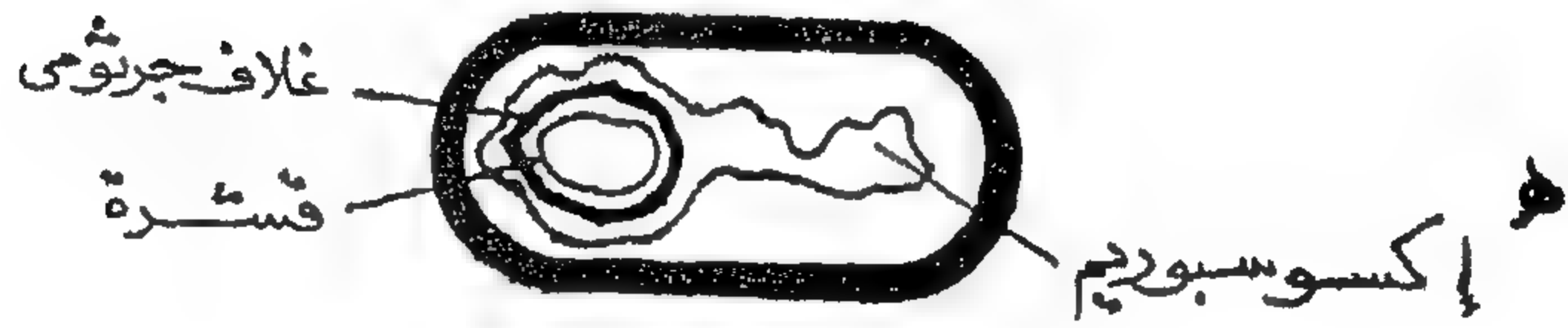
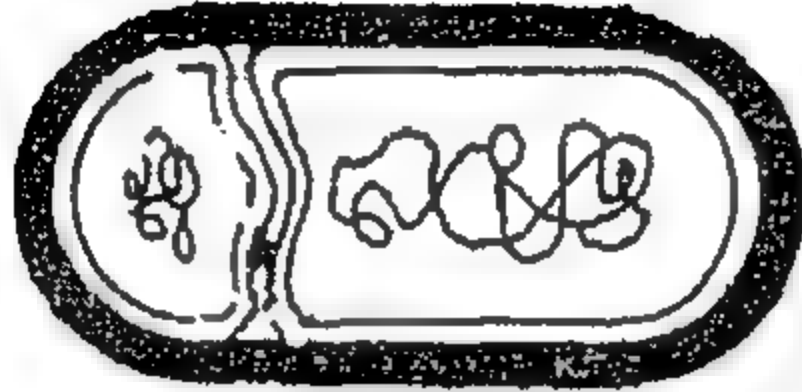
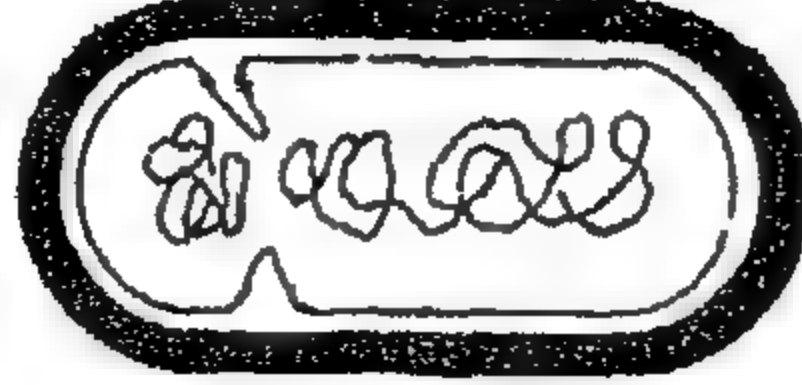
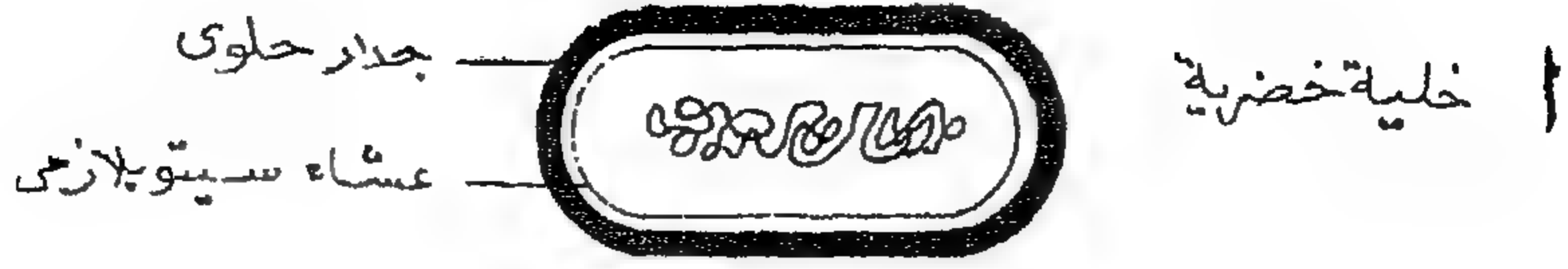
٣ — ينمو الغشاء الخلوى من الخلية الأم حول الجرثومة المتكشفة والى تحاط بغشاء مزدوج .

٤ — تتكون القشرة cortex من الميوكوبيتيد بين الغشائين . يتم تخليق حمض الداى بيكولينيك dipicolinic acid ويتم أخذ أيونات الكالسيوم كا++ والسيسيتين . ثم يتكون الغلاف الجرثومى بطبقاته المختلفة . ويبدأ تكوين الأكسوسبوريم وتصبح الجراثيم المتكشفة قادرة على كسر الضوء



شكل ٥٠ : رسم تخطيطى يبين موضع وحجم وشكل الجراثيم الداخلية .

- (أ) طرفية دائرية منتفخة .  
 (ب) وسطية بيضية منتفخة .  
 (ج) وسطية دائرية .  
 (د) طرفية بيضية .  
 (هـ) تحت طرفية بيضية .



رسم تخطيطي يبين خطوات تكوين الجرثومة الداخلية .

- ( أ ) يتحول الـ DNA إلى خيط طويل .
- ( ب ) أحد الكروموسومات يذهب إلى طرف الخلية .
- ( ب، ح ) ينمو الغشاء الخلوي من الخلية الأم حول الجرثومة المتكشفة والتي تحاط بغشاء مزدوج .
- ( د ) تتكون القشرة من الميوكوبيتيد بين الغشائين ويبدأ تكوين الغلاف الجرثومي .
- ( هـ ) تسمك طبقات الغلاف الجرثومي
- ( و ) بقايا الخلية تتحلل وتنتحرر الجرثومة .

٥ — تسمك طبقات الغلاف الجرثومي وتتكون الانخفاضات أو الأخاديد (شكل ٤٨ وشكل ٤٩) وتصبح الجراثيم مقاومة للحرارة والأوكتانول octanol وذات قدرة عالية على كسر الضوء ومقاومة للصبغ .

٦ — بقايا الخلية تتحلل وتحرر الجرثومة .

الأجسام المصاحبة للجراثيم : parasporal bodies

قد يصاحب عملية التجرثم داخل الكيس الجرثومي Sporangium تخليق أجساما بلورية يطلق عليها الجسم المصاحب للجراثيم parasporal body ففي حالة الحلايا المتجرثمة من البكتيريا *Bacillus thuringiensis* تحتوى على بلورة بروتينية مشتملة الشكل octahedral (شكل ٥٢ وشكل ٥٣) ويلاحظ أن كل خلية متجرثمة تحتوى على جسم واحد فقط من هذه الأجسام . وهذه الأجسام بعكس الجراثيم الداخلية تصبغ بسهولة وهى لا تحاط بأى غشاء أو غطاء . وقد وجد أن كميات ضئيلة من هذه المكونات البلورية تعتبر سامة جدا لكثير من الحشرات وتسبب شللا لها وتستعمل حاليا هذه البلورات وجراثيم البكتيريا *B. thuringiensis* فى المقاومة الحيوية biological control لبعض أنواع الحشرات .

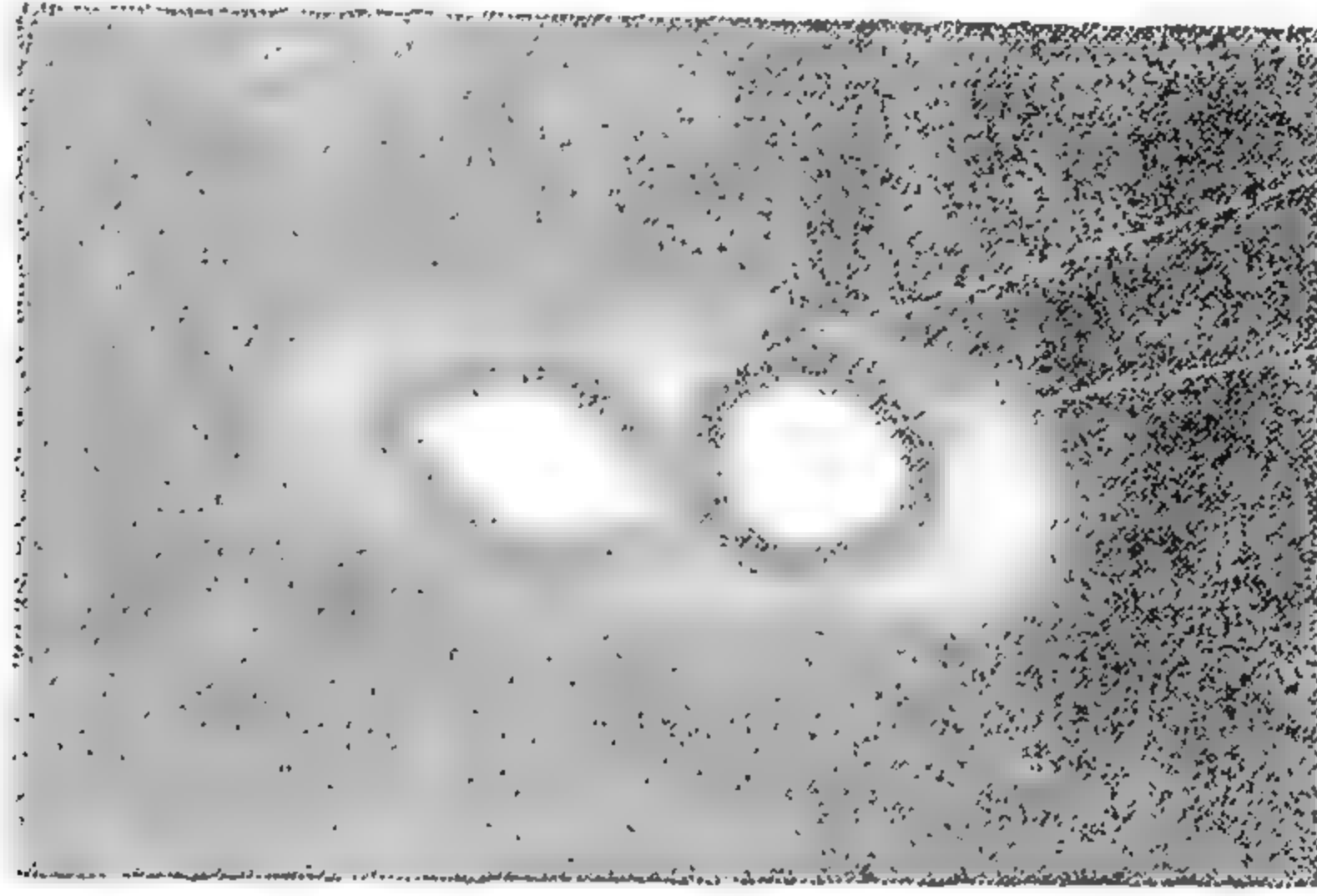
وتتكون أيضا أجساما مصاحبة مختلفة فى كثير من الانواع المتجرثمة منها *Bacillus medusa* حيث تكون هذه الأجسام أكبر حجما من الجراثيم المرافقة (شكل ٥٤) وأنها تصبغ بسهولة فى حين تظل الجراثيم بدون صبغ ويلاحظ فى البكتيريا *Bacillus laterosporus* التى تعزل فى بعض الأحيان من يرقات نحل العسل وأيضا من التربة والمياه أن الجراثيم تكون محاطة بجسم خارجى بشكل القارب Canou يصبغ بعمق فى حين تبقى الجرثومة دون صبغ (شكل ٥٥) .

فسيولوجيا التجرثم :

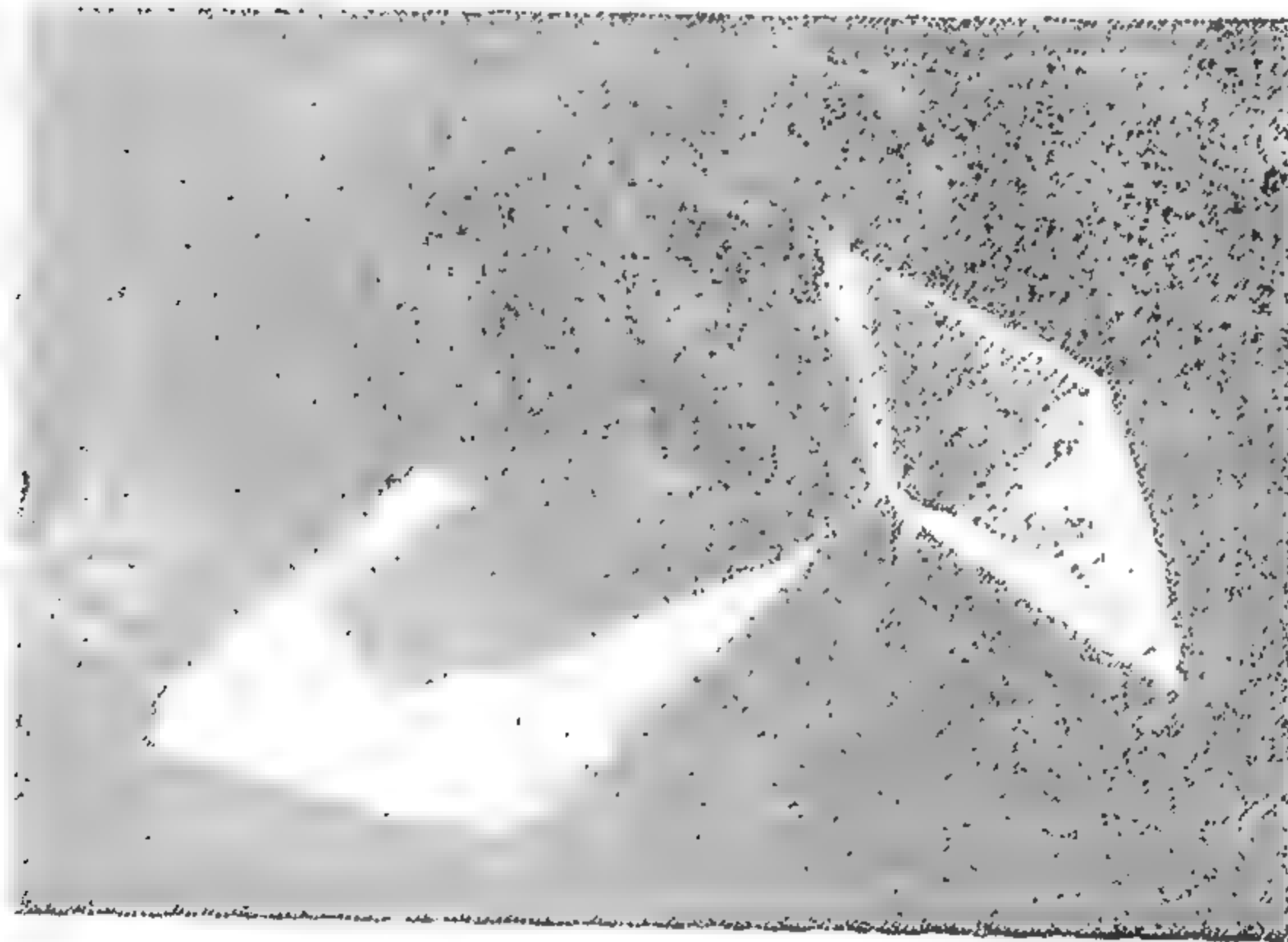
للجراثيم الداخلية خواص فسيولوجية مميزة ، مثل مقاومتها للظروف



البيئية عن الخلايا الحضرية ومقاومتها للحرارة العالية وبعض الإشعاعات ذات الموجات القصيرة والمواد الكيماوية السامة والجفاف ويمكنها أن تبقى ساكنة لمدة طويلة . ويبدو أن التجزئ يبدأ عندما تعاني الخلايا نقصا غذائيا ، فوجود



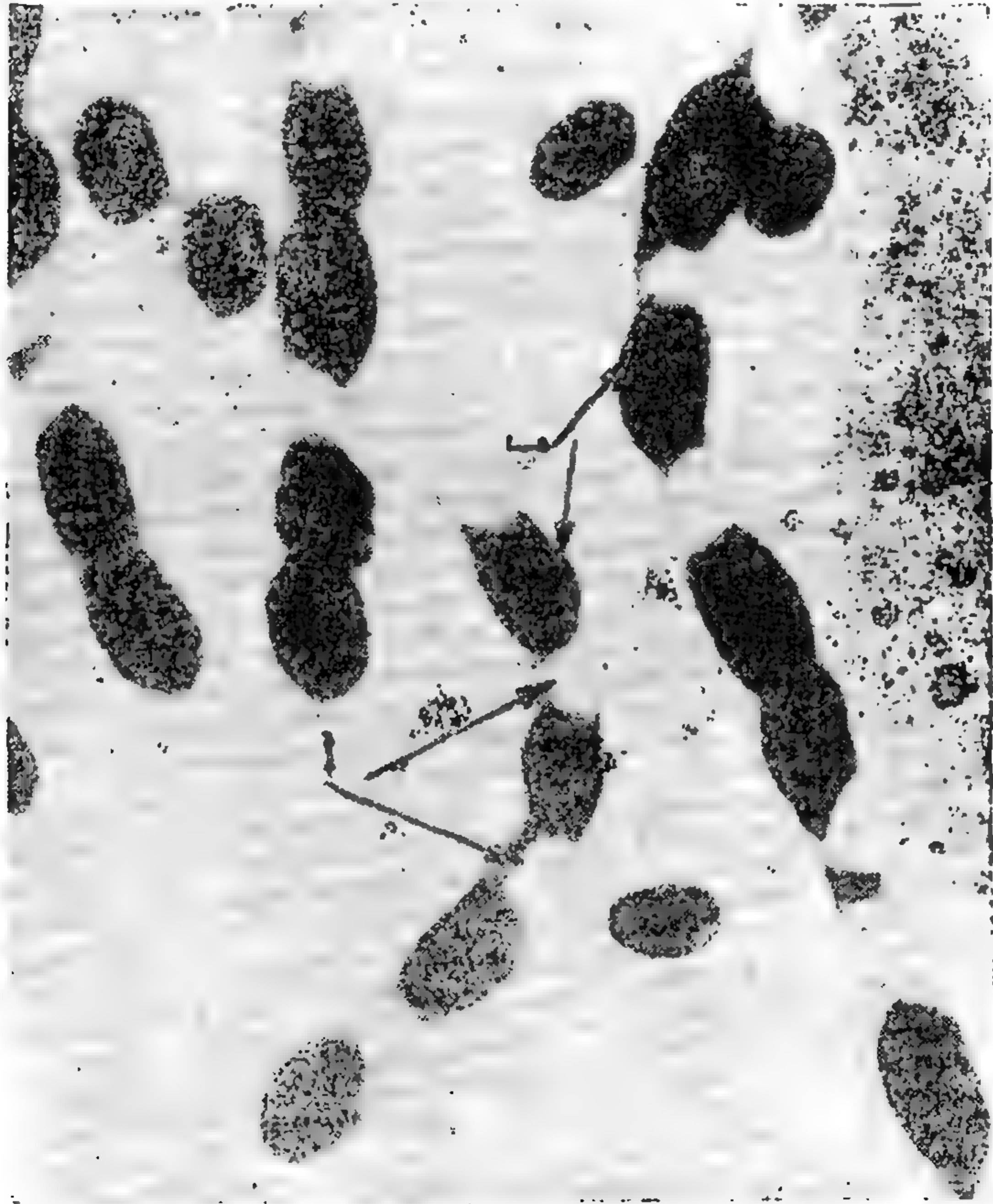
شكل ٥٢ : صورة ميكروسكوبية للجسم البلوري المصاحب لجراثيم البكتيريا *Bacillus thuringiensis* (أ) بلورة بروتينية (الجسم المصاحب) (ب) الجرثومة الداخلية .  
(عن Nester et al. 1978).



شكل ٥٣ : صورة إلكتروميكروسكوبية للجسم البلوري المصاحب لجراثيم البكتيريا *Bacillus thuringiensis* لاحظ أن الجسم البلوري معين الشكل ذو ثمانية أضلاع (X ٢٠٠٠٠) .  
(عن Klieneberger - Nobel 1965).

الجلوكوز (مصدر الطاقة) بالبيئة يصاحبة دائماً تثبيط لعملية التجزئ . ولوحظ أيضا أنه عندما يكون النيتروجين (مصدر البناء) المتاح محدودا تزداد فرصة حدوث التجزئ . ولوحظ أيضا أن نقص الألانين ينبه حدوث التجزئ في بعض سلالات البكتيريا *Bacillus mycoides* .

وعلاوة على التغذية فإن للتهوية أثر أيضا في عملية التجزئ فقد لوحظ أن



شكل ٥٤ : صورة ميكروسكوبية تبين سلاسل من خلايا البكتيريا *Bacillus medusa* . لاحظ الجراثيم اللامعة المشار إليها (أ) وكذلك الأجسام المصاحبة (ب) . لاحظ أنه توجد بكل خلية جرثومة واحدة وجسم مصاحب واحد (x ٤٠٠٠) . (عن Klieneberger - Nobel 1965)

نقص الأوكسوجين يسبب تجرثم بعض سلالات البكتيريا *Bacillus megaterium* . وهناك بعض المواد غير التي ذكرت والتي يلزم توفرها في البيئة ليحدث التجرثم فبعض الأنواع تحتاج إلى مصدر من أيونات الكالسيوم، على حين أن *Bacillus subtilis* تحتاج إلى مصدر لأيونات المنجنيز .

وقد عزي السبب في مقاومة الجراثيم للحرارة إلى قلة محتواها المائي وكذلك إلى أن الماء الموجود بها يكون في صورة مرتبطة بالبروتينات الغروية



شكل ٥٥ : صورة ميكروسكوبية لخلايا البكتيريا *Bacillus laterosporus* لاحظ الجراثيم الالامعة (أ) وأن كل جرثومة تكون محاطة بجسم مصاحب (ب) يتخذ شكل القارب (x ٥٥٠٠) . (عن Klieneberger - Nobel 1965)

وليس حرا كما هو الحال في الخلايا الخضرية . إلا إنه يعتقد حاليا كما سبق أن بينا أن مقاومة الحرارة تعزى إلى وجود ملح الكالسيوم لحمض الداي بيكولينيك .

ولوحظ أيضا أن الجراثيم تحتوى على تركيز عال من السيستين بدرجة أكبر منها في الخلايا الخضرية ووجد أن السيستين ضرورى لتخليق الغلاف الجرثومى الذى يحمى الجرثومة من المؤثرات الخارجية .

ومن الإنزيمات التى وجد أن لها نشاطا يربو على نشاطها في الخلايا الخضرية الإنزيم المعروف باسم الألانين راسياز alanine racemase .

والسؤال الآن هل تختلف الإنزيمات في الجرثومة عن الإنزيمات في الخلايا الخضرية ؟ لوحظ نوعين من الاختلافات : —

التحويل الأول : تحويل الإنزيمات الخضرية لتعطى إنزيمات جرثومية فمثلا إنزيم الألدوليز aldolase المحضر من الجراثيم يكون أكثر مقاومة للحرارة عن الإنزيم المحضر من الخلايا الخضرية .

التحويل الثانى : وهو إرتباط الإنزيمات بالمكونات الجرثومية . ويؤيد هذا الافتراض عدم القدرة على عزل والتعرف على أنواع معينة من البروتينات في الجراثيم .

#### التحكم في التجرثم البكتيرى Regulation of bacterial sporulation

إن النظام الوراثى للخلية علاوة على الظروف البيئية المختلفة تلعب دورا هاما في إحتفاظ الجرثومة بالطور الخضرى أو في إقدامها على التجرثم . بمعنى أنه يتحكم في عملية التجرثم عدد من الطرق المنظمة regulatory mechanisms . فهناك بعض العوامل الوراثية تعمل أو توقف عمل بعض العوامل الوراثية الأخرى ويصاحب التغير السيتولوجى الذى يحدث عند تكوين الجرثومة تغييرا في التركيب الكيماوى وكذلك في إنزيمات الخلية الخضرية . فالكثير من الإنزيمات التى لم يمكن الكشف عنها في الخلايا الخضرية تظهر خلال



مرحلة التجزئ. وعلى العكس من ذلك فإن كثيرا من الأنظمة الإنزيمية التي تميز الخلايا الخضرية توجد على مستوى منخفض جدا أولا توجد مطلقا في الجراثيم . وبالإضافة لذلك فإن عدد كبير من المكونات التي لا توجد في الخلايا الخضرية تظهر في الجراثيم . كل هذه الحقائق تدل على أن كمية المعلومات الوراثية المتعلقة بعملية التجزئ لا يعبر عنها خلال النمو الخضرى . ويبدو أن هناك عدد ٥٠ من العوامل الوراثية المتعلقة بالتجزئ توجد على مواقع منفصلة على الكروموسوم في الخلية البكتيرية .

والسؤال الآن ما الذى يجعل عوامل وراثية معينة دون الأخرى تتناسخ transcribe ؟ ( أى تناسخ الـ RNA من الـ DNA ) الإجابة غير معروفة تماما ولكن بعض البحوث الحديثة أظهرت الآتى :-

أولا : يبدو أن كل خطوة في عملية التجزئ يلزم لها مشاركة خطوة سابقة لها . فمثلا إذا حدث قصور في إنزيم معين لازم لعملية التجزئ فإن تكشف الجرثومة سيقف عند هذه المرحلة ولن يتم تخليق أى إنزيم في مرحلة تالية من الكشف .

ثانيا : حدوث تحوير لإنزيم RNA Polymerase للخلايا الخضرية خلال عملية التجزئ . ويبدو أنه يحدث تحوير في هذا الإنزيم في الخلية المتجزئة يجعل الخلية غير قادرة على نسخ العوامل الوراثية المصاحبة للنمو الخضرى ولكن يجعلها قادرة على نسخ العوامل الوراثية المصاحبة للتجزئ . وهذا يؤدي إلى وقف عمل بعض العوامل الوراثية المصاحبة للنمو الخضرى أثناء التجزئ وأن عوامل وراثية أخرى مصاحبة للتجزئ يبدأ عملها . ووجد أن الجلو كوز يمكن أن يحدث تثبيط أو منع repressing تخليق عدد من الإنزيمات المسؤولة عن التجزئ .

إنبات الجراثيم :

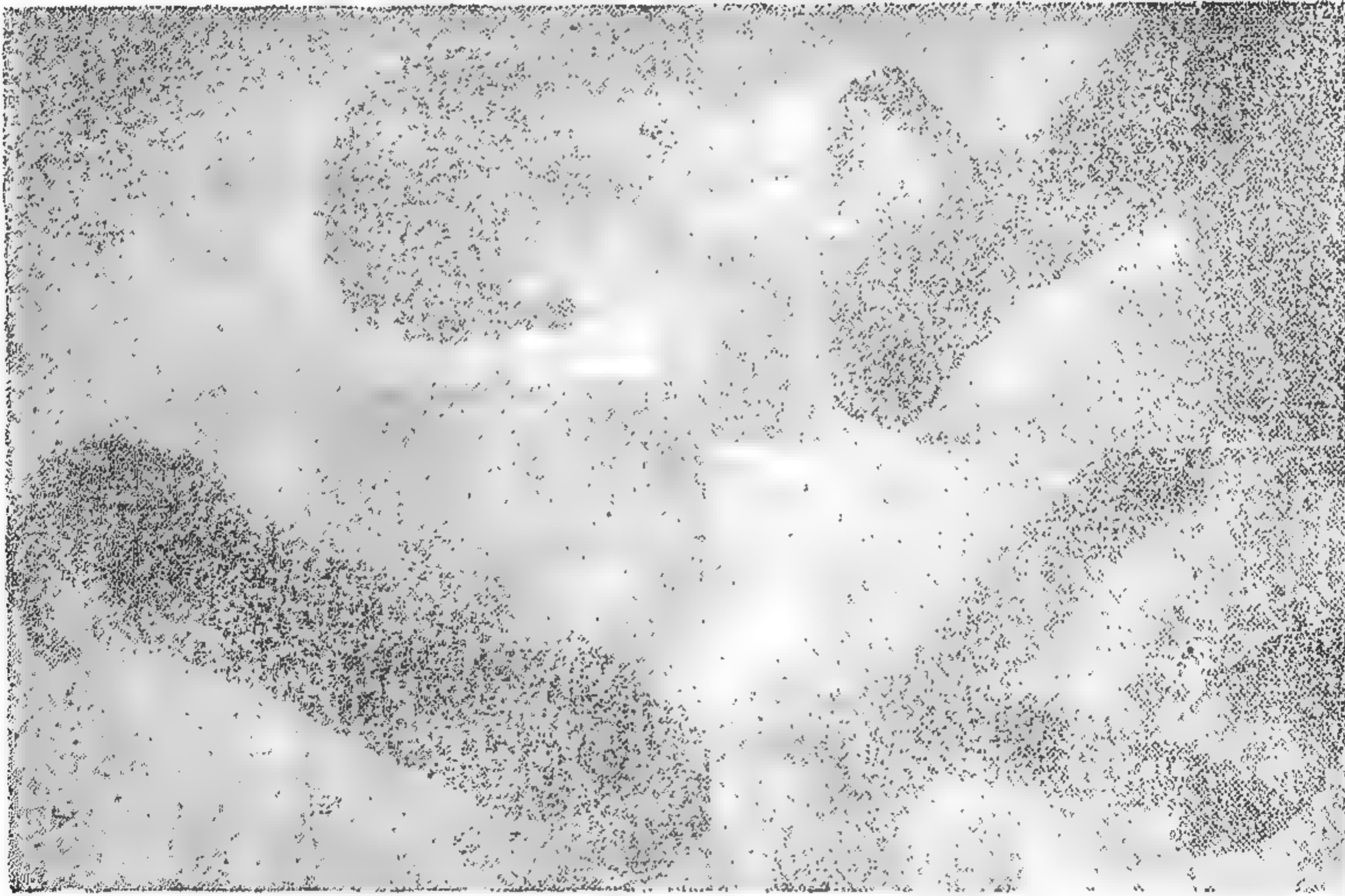
عندما تقدم الجرثومة على الإنبات يحدث أن تفقد قدرتها على كسر

الضوء وتزداد قابليتها للصبغ بالطرق البسيطة كما تفقد قدرتها على مقاومة الحرارة ويتبع ذلك كله نقص في وزنها الجاف . وفي الدراسات التي تمت على جراثيم بعض أنواع الجنس *Bacillus* ظهر أن الوزن الجاف للجراثيم يقل عند الإنبات بواقع ٣٠٪ من الوزن الجاف الأصلي للجرثومة . ويعزى هذا الفقد إلى إفراز وخروج بعض المواد الكيماوية المعينة من الجراثيم مثل أيونات الكالسيوم وحمض الداي بيكولينيك والميو كوبيتيد . ورغمما عن نقص الوزن الجاف للجرثومة إلا أنه يحدث زيادة في حجمها ثم يتبع ذلك إنشقاق غلاف الجرثومة وإبتداء الطور الحضري (شكل ٥٦) . والغلاف الجرثومي قد ينشق قطريا أو بالقرب من طرف الخلية (طرفيا) . والخلية الحضرية الناتجة عن الإنبات تواصل إنقسامها إذا ما كانت الظروف البيئية مناسبة لذلك . ومما لا شك فيه أن الظروف التي تنبت عليها الجراثيم البكتيرية هي نفس الظروف الموافقة للتكاثر الحضري ، إلا إنه وجد أن بعض المعاملات الفيزيائية تنبه إنبات أنواع من الجراثيم . ومن المعاملات الفيزيائية المؤدية لذلك تسخين الجراثيم إلى ٦٠°م لمدة ساعة أو درجة ٦٥°م لمدة ٢ ساعة أو الرج مع كرات زجاجية صغيرة (قطرها ٤٠ nm ) أو المعاملة بمواد نشطة سطحيا surface active agents

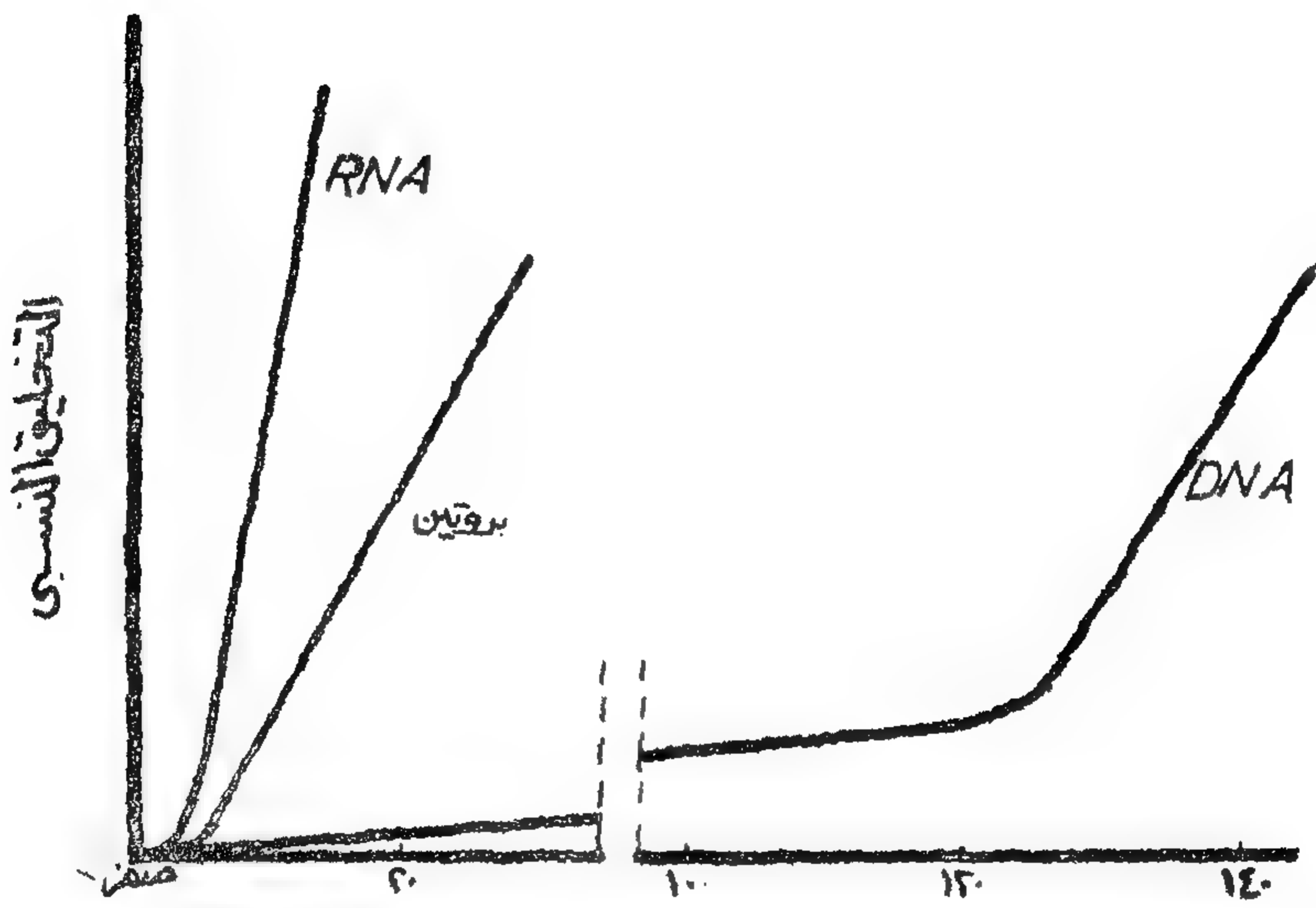
ووجد أن إنبات بعض الجراثيم البكتيرية وخاصة التابعة للجنس *Clostridium* تتطلب وجود كمية كافية من غاز كاه في الجو المحيط بها ، كما يتطلب وجود مستخلص الخميرة بالبيئة . وإنبات جراثيم البكتيريا التابعة للجنس *Bacillus* لا يتطلب وجود جو من كاه ولكنه يتطلب وجود محاليل فوسفاتية وأحماض أمينية معينة . فقد وجد أن الحمض الأميني ل — ألانين يشجع إنبات هذه الجراثيم وكذلك جراثيم *B. cereus* . كما أن وجود المشابه د — ألانين بتركيز بسيط ( ١ د — ألانين : ٣٠ ل — ألانين ) يوقف الإنبات . وأن زيادة تركيز ل — ألانين يعيد الإنبات مرة أخرى . ولما هو معروف عن زيادة نشاط الإنزيم ألانين راسياز alanine racemase في الجراثيم عنه في الخلايا الحضرية ، يمكننا إذن أن نتفهم دور الحمض الألانين

بصورتية د ، ل في التحكم في إنبات الجراثيم . وإن نسبة هذه المشابهات إلى بعضها تستغلها الجرثومة للتحكم في الإحتفاظ بحالة السكون وأن أى إختلال في هذه النسبة كالذى يحدث عند إضافة المشابه ل — ألانين يفسد التوازن ويؤدي إلى خروج الجرثومة عن سكونها .

ومن النقط المثيرة للإنتباه معدل التخليق النسبي للجزيئات الكبيرة (DNA و RNA و البروتين) بعد إبتداء الإنبات (شكل ٥٧) . فكما هو متوقع يبدأ تخليق الـ RNA أولاً لأن بعض العوامل الوراثية يحدث لها تناسخ مبكراً .



شكل ٥٦ : صور إلكتروميكروسكوبية توضح خطوات إنبات جراثيم *Bacillus mycoides* .  
العليا إلى اليسار : الخلية الخضرية في بداية إنباتها من الجرثومة .  
العليا إلى اليمين : الخلية الخضرية تنمو .  
السفلى إلى اليسار : إنشقاق الغلاف الجرثومي إلى جزئين .  
السفلى إلى اليمين : تم إنبات الجرثومة . (عن Burrows 1973 )



### الوقت بالدقائق بعد بداية الإنبات

شكل ٥٧ : معدل التخليق النسبي للـ RNA والـ DNA والبروتين بعد إنبات جراثيم *Bacillus cereus* . (عن Levy et al. 1973)



## المراجع

- Bisset, K.A. 1955. J. Gen. Microbiol. 13 : 442.
- Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1035 p.
- Gunsalus, I.C. & R.Y. Stanier. 1961 (eds.) The Bacteria, vol. I : Structure, (Morphology of bacterial spore. Their development and Germination by C.F. Robinow). Academic Press. New York.
- Hardwick, W.A. and J.W. Foster. 1952. On the Nature of Sporogenesis in some aerobic bacteria. J. Gen. Physiol 35 : 907.
- Hills, G.M. 1949. Chemical factors in the germination of sporebearing aerobes. On the effect of nutritional factor. J. Microbiol., 4 : 38.
- Kanys, G. 1948. The endospore of bacteria. Bacteriological Review 12:19.
- Klieneberger - Nobel, E. 1965. Focus on Bacteria. Academic Press, London and New York. 145 p.
- Lamanna, C. 1940. J. Bacteriol. 40 : 317.
- Oginsky, E.L. and W.W. Umbreit. 1954. An Introduction to Bacterial Physiology. W.H. Freeman and Co. San Francisco.
- Levy, J., J. J. R. Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and Sons, INC. New York. 684 p.
- Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Prarsall, and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York. 769 p.
- Powel, E.O., 1957. J. App. Bacteriol. 20 : 342.
- Robinow, C.F. 1935. J. Bacteriol., 66 : 300.
- Robinow, C.F. 1951. J. Gen. Microbiol. 5 : 439.
- Williams, O.B. et al. 1952. «Symposium on the biology of Bacterial spores, Bacteriological Review, 16 : 89.



# الباب الثالث

## معيشة وتأقلم البكتيريا

### في البيئات الطبيعية

#### Ecology of Bacteria

ان دراسة طرق معيشة وتأقلم الكائنات الحية عموما في بيئاتها الطبيعية ، تعتبر من الدراسات المفيدة التي تجذب اليها كثير من العلماء من شتى الميادين العلمية . فهي هامة لدارسي علم البيئة ecology ، وعلم الاجتماع Sociology وهامة أيضا لعلماء الحفريات paleontologists ، وكذلك لعلماء الآثار archaeologists . فكل هؤلاء العلماء يهتمون أن يعرفوا العلاقة بين الكائنات الحية ، دقيقة كانت أم كبيرة ، والبيئة المحيطة بها كل من وجهة نظر معينة بالرغم من التشابه الكبير في الطرق البحثية المتبعة . وهذه الدراسات تؤدي إلى معرفة الظروف التي يمكن بها أن تعيش وتنمو مجموعات الكائنات المختلفة ، وإلى معرفة الظروف التي توقف نموها وازدهارها . والتعرف على دور الفرد وتأثيره في حياة المجموعات البيولوجية وكذلك تأثير المجموع على حياة الفرد . ويمكن الحصول على مثل هذه المعلومات عن طريق الملاحظات الدقيقة والمقارنات السليمة ، التي تسفر عن معرفة تأثير العوامل الفيزيائية - (درجات الحرارة الجوية المختلفة ، والضوء ، والرطوبة) . وتأثير العوامل الكيميائية (توفر الغذاء ، ووجود مواد كيميائية سامة بالبيئة المحيطة بها ، وما إلى ذلك) ، وكذلك تأثير البيئة البيولوجية (تنافس على الطعام ، تطفل ، معيشة تعاونية) على درجة نمو وتأقلم الكائنات الحية المختلفة .

ولا يقل إهتمام علماء البكتيريولوجيا بهذا النوع من الدراسات البيئية عن غيرهم من العلماء إلا أن دراستها تعتبر أكثر تعقيدا وصعوبة نتيجة للسبب

التقليدى الذى يزيد من تعقيد الدراسات البكتريولوجية ألا وهو صغر حجم الخلايا البكتيرية والذى يجعل من العسير التعرف على أنواعها ، على أساس أشكالها الظاهرية كغيرها من الكائنات ، فمثلا يتطلب التعرف على الأنواع البكتيرية فى وسط ما أخذ عينات إلى المعمل وزرع جزء منها بطرق معينة ثم عزل الكائنات المختلطة كل بمفرده ، ثم تجرى على كل مزرعة نقية عدة اختبارات مورفولوجية وفسيولوجية ، وسيرولوجية حتى يمكن التأكد من الأجناس أو الأنواع التى تنتمى إليها. لذلك فإن دراسات الحصر العام general survey للفلورا البكتيرية Bacterial flora ، ودراسة تأثير العوامل المختلفة على بقاؤها تعتبر أكثر تعقيدا من الملاحظات والمشاهدات التى يكتفى بها أحيانا فى مثل هذه الدراسات على النباتات الراقية مثلا .

وعادة يدرس تأثير العوامل الفيزيائية والكيمائية المختلفة على المزارع النقية من البكتيريات المختلفة وعن طريق هذه الدراسات يمكن معرفة مقدرة البكتيريات المختلفة على التفاعل مع التغيرات البيئية التى تحدث فى الطبيعة .

وعندما تكون مثل هذه الدراسات غير كافية لإظهار كيفية معيشة وتأقلم هذه الكائنات فى الطبيعة يجرى مزيد من الدراسة لمعرفة العلاقات البيولوجية بين البكتيريات المختلفة بعضها ببعض وكذلك علاقتها بالكائنات الحية الأخرى التى تعيش معها فى البيئة الطبيعية — فالكائنات الحية الدقيقة لا تعيش بمفردها فى مزارع نقية فى بيئاتها الطبيعية فهى تعيش دائماً فى مجاميع مختلطة mixed populations وافراد هذه المجاميع المختلطة من تنافس بعضها البعض على مصدر الغذاء وأحيانا أخرى نجد بعض افراد المجموعة تعتمد على غيرها للحصول على ما يلزمها من الغذاء . كما أن هناك عددا كبيرا من المواد الكيمائية المضادة لنمو الكائنات الدقيقة تفرز نتيجة لنمو بعض البكتيريا والفطريات ، وقد اكتشفت تأثيرها عند محاولة البحث عن المصادات الحيوية المفيدة للإنسان فى علاج كثير من الأمراض الميكروبية . مثل هذه المواد الكيمائية لا بد وأنها تلعب دورا هاما فى بقاء وتأقلم المجاميع المختلطة . وعلاوة على ذلك فإن هناك بعض



البكتيريا تكون ذات قدرة أكبر من غيرها من الكائنات الدقيقة على مقاومة الظروف البيئية الشاذة وهذه عادة ما يسود تعدادها، المجاميع المختلطة .

والبكتيريا المتطفلة ( parasites ) سواء على النبات أو الحيوان وتلك التي تعيش مع غيرها من الكائنات معيشة تكافلية ( symbiosis ) تكون اقدر من غيرها على التغلب على نظم العائل الدفاعية deffensive mechanisms وكلما كانت هذه الطرق مبنية على أسس بيو كيميائية كلما زاد تفهمنا لطرق حياة مثل هذه المجاميع المختلطة .

من ذلك نرى إن نمو المجموع يتوقف على نمو الفرد ومقدرته على التكاثر وقد اصطلح بعض علماء البكتريولوجيا على استعمال كلمة نمو growth للإشارة إلى الزيادة في الكتلة الخلوية cell mass سواء كان ذلك للخلية الواحدة أو لمجاميع من الخلايا كتلك المكونة للمستعمرة أو المزرعة البكتيرية واستعمال كلمة تكاثر reproduction يشار بها إلى الزيادة في عدد الخلايا cell numbers نتيجة للانقسام ، إلا أننا سوف نستعمل كلمة نمو growth هنا للإشارة إلى كل من الزيادة في الكتلة الخلوية والزيادة في تعداد الخلايا أيضا وقدرة الخلايا البكتيرية على الانقسام تعتبر الطريق المعتاد للتحكم على حيويتها . وحقيقة أن بعض الخلايا البكتيرية غير الحية يكون لها بعض النشاط الأيضي ولكنها لا تقدر على التكاثر لفساد نظمها الخاصة بالانقسام ، ويجب أن نقف هنا قليلا لنناقش نقطة هامة تتعلق بالفيروسات القابلة للتبلور . فقد وجد أنه ليس لجزيئات هذه الفيروسات أى نشاط أيضي ولكنها مع ذلك قادرة على التكاثر . وعلى أساس هذه النقطة يمكن اعتبار الفيروسات كائنات حية — بصرف النظر عن كونها متبلورة أو غير متبلورة . ومقدرة الخلية على النمو ، والتكاثر تتوقف كثيرا على كفاءتها في تجهيز مواد بروتوبلازمية جديدة من مصدر الغذاء المحيط بها . وتحويل المواد الخام إلى نواتج تفاعل بمساعدة الجهاز الانزيمي الخلوى وهذا بدوره يكون محكوما بالنظام الوراثى للخلية .

## الفصل الأول

### نمو وتكاثر البكتيريا

#### Growth and Reproduction of bacteria

عندما تنمى البكتيريا على بيئة صناعية مناسبة وتسمى لها الظروف الملائمة ينتج بالبيئة - خلال فترة وجيزة - عدد كبير من الخلايا نتيجة لانقسام الخلايا وتكاثرها ويصل عدد خلايا بعض الأنواع البكتيرية إلى ذروته في فترة أربعة وعشرين ساعة على حين أن بعض الأنواع الأخرى تتطلب وقتاً أطول من ذلك ليصل تعداد خلاياها إلى حده الأقصى . وقد سبق أن ذكرنا أن استعمال كلمة نمو (growth) في علم البكتيريا يقصد بها المحصول النهائى من الخلايا وعادة تبدأ المزرعة البكتيرية بكمية من اللقاح محتوية على آلاف من الخلايا ، فالمقصود بالنمو إذن هو الزيادة في تعداد الخلايا عن القدر الذى بدأت به المزرعة والذى كان موجوداً باللقاح الأصيل . لذلك فإن تقدير النمو يتطلب قياسات كمية للمحصول الخلوى .

#### عملية التكاثر الخلوى : The process of cell reproduction :

ان نمو وانقسام الخلايا البكتيرية يمثل عملية دورية cyclical فكل خلية جديدة تتكون ، تصبح بدورها ذات قدرة على التكاثر ، بمعنى أن الخلايا - الجديدة الناتجة عن الانقسام تمتلك الخصائص الفسيولوجية التى كانت تميز آباءها القادرة على التكاثر .

وتتلخص عملية التكاثر عند بدء الخلية في النمو بزيادة محتوياتها البروتوبلازمية نتيجة لحدوث عدة تفاعلات غير مرتبطة ببعضها . وتتوزع المواد الغذائية داخل الخلية عقب مرورها خلال الغشاء السيتوبلازمى .

وتخليق البروتينات ، والكربوايدرات ، والدهون ، والأحماض النووية الجديدة بالخلية يتطلب تجهيز عدد كبير من المواد الكيماوية التي تدخل في تركيب هذه المواد المختلفة ثم ترتب هذه المواد بطرق خاصة تختلف باختلاف نوع أو طراز البكتيريا النامية. فمثلا يمكن للطرز المختلفة من البكتيريا *Pneumococci* أن تنمو جميعا على بيئة غذائية واحدة إلا أن كل طراز يكون موادا غلافية تختلف عن الطراز الآخر بالرغم من تشابه الطرز جميعا في نوع البروتين الحلوى المتكون ، فالخلية البكتيرية إذن تنمو طبقاً لنظام مرسوم ومحدد قبل انقسامها وأن هذا النظام يتكرر بتكرار انقسام أجيالها المتعاقبة ما لم يحدث تغيير في جهازها الوراثي . فالنظام الوراثي للخلايا هو الذي يتحكم إذن في كيفية تخليقها للمواد البنائية وفي درجة انقسامها .

إن معظم الدراسات السيتولوجية الخاصة بالانقسام الحلوى تمت على البكتيريا العصوية الموجبة لصبغة جرام والكبيرة الحجم نوعا والتابعة لجنس *Bacillus* . واستعمال الأصباغ العادية بالاستعانة بالمجهر الضوئي لا يفي بهذا الغرض من الدراسات ، إلا أنه قد اتبع لذلك حديثا طرق صبغ خاصة ، كما كان لاستعمال المجهر الالكتروني أهمية كبيرة في دراسة انقسام البكتريات في التحضيرات غير المصبوغة . وقد اظهرت هذه الدراسات أن نمو الخلايا قبل الانقسام يؤدي إلى زيادة في طولها (يلاحظ ذلك بوضوح في البكتريات العصوية عنها في البكتريات الكروية) ، ومع الزيادة في كمية السيتوبلازم يتكون بالخلية القادمة على الانقسام كمية من المحتويات النووية DNA تكفي لخليتين . وقد سبق أن ذكرنا أنه قامت عدة محاولات لمعرفة مدى التشابه بين انقسام المحتويات الكروماتينية بالخلية البكتيرية والانقسام العادي mitosis الذي يتم بالخلايا الراقية ، إلا أنه لم يمكن الجزم أن المحتويات البكتيرية تنقسم بطريقة مشابهة لأي طور من أطوار هذا النوع من الانقسام ، وحيث أن الطرق المتبعة في صبغ المحتويات الكروماتينية قد تغير كثيرا من شكل ووضع هذه المحتويات بالخلية فإنه يصعب حينئذ الحكم بأن ما نشاهده بالخلية المصبوغة يمثل

الحالة الطبيعية للأجسام الكروماتينية المنقسمة ، وفي الحقيقة فإن انقسام —  
المحتويات الكروماتينية للخلايا البكتيرية لم يشاهد أو يلاحظ إلى الآن ولكن  
يوجد من الأدلة ما يكفي للاعتقاد بأنها تنفصل عن بعضها أى تحدث تكرار  
للكروموسوم البكتيرى chromosomal replication الدائرى .

وعقب زيادة الخلايا المقبلة على الانفلاق فى الحجم تبدأ الخلايا فى الانقسام إلى  
خليتين ويحدث ذلك بتكون غشاء سيتوبلازمى عرضى transverse membrane  
(شكل ٥٨) يكون متصلاً بالغشاء السيتوبلازمى ومصاحباً للميزوسومات بالحلبة  
الأم .

ويلاحظ عند الفحص المجهرى لتحضير مصبوغ من الخلايا المنقسمة أن  
الغشاء العرضى الذى يفصل بين الخليتين الجديدتين ينشق إلى غشائين منفصلين  
نتيجة لتكون جدار خلوى جديد بينهما . وقد أمكن إظهار مثل هذا الجدار  
الخلوى المتكون بطرق الصبغ المميزة للجدار الخلوية ، ويعقب ذلك انشقاق  
للجدار الخلوى العرضى المتكون بدوره إلى طبقتين . والخليتان الجديدتان إما  
أن ينفصلا عن بعضهما مباشرة ، أو يظلا ملتصقتين ليكونا سلسلة من الخلايا  
أو تجمعات مختلفة كما سبق بيان ذلك .

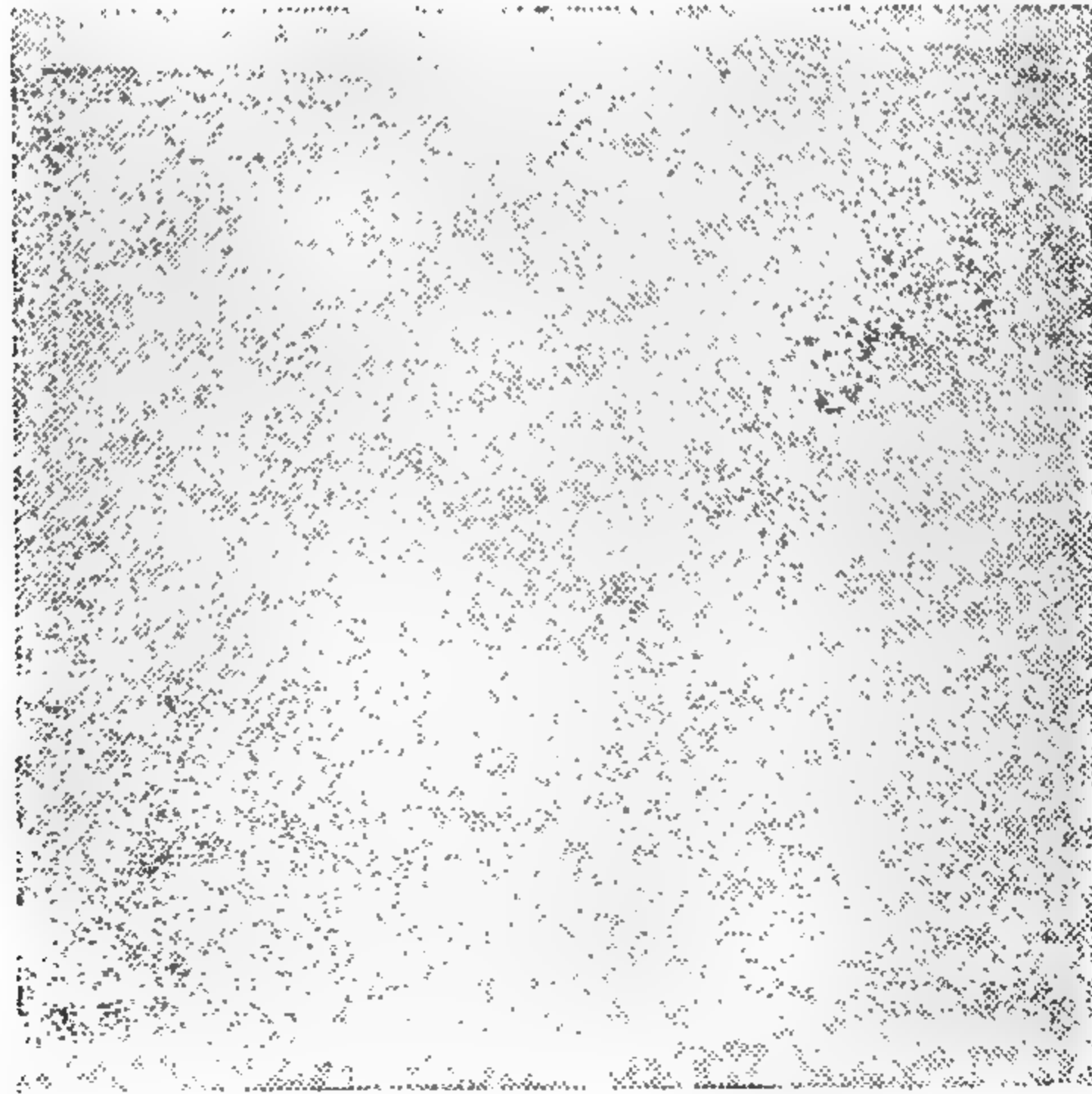
وهناك تفسير آخر لحدوث الانقسام الخلوى وهو ينص على أن الخلية  
البكتيرية تنقسم نتيجة لنمو حاجز عرضى يتكون من مادة الجدار  
الخلوى ينشأ من منطقة جدار الخلية الأم ممتداً بداخل الخلية حتى يفصلها  
إلى خليتين وأن الجدار المتكون لا يلبث أن يزدوج ليسهل انفصال  
الخلايا الجديدة المتكونة .

وقد بينت الدراسات الحديثة أن الغشاء السيتوبلازمى العرضى السابق



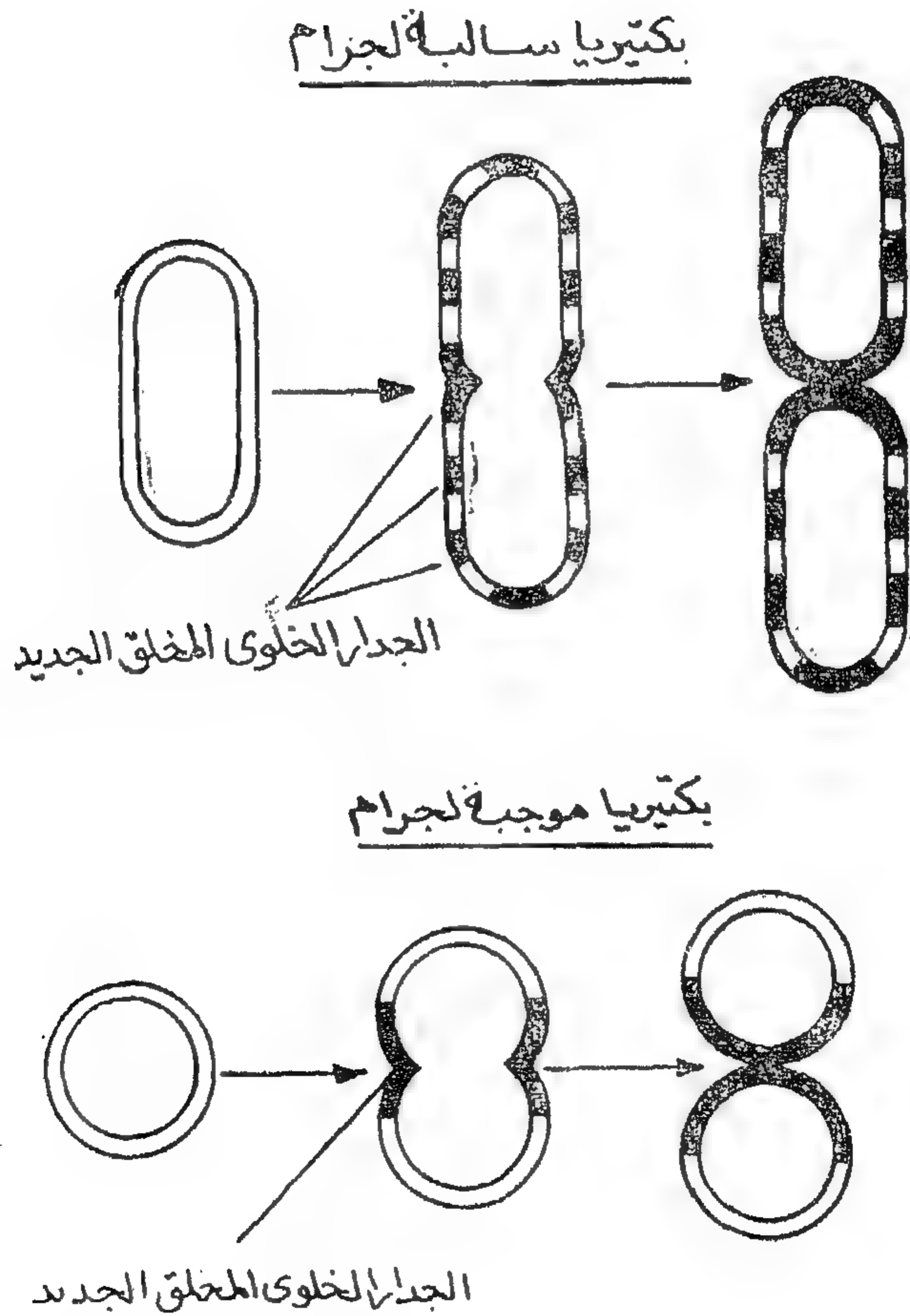
الإشارة إليه هو أول ما يتكون أثناء إنقسام الخلية وليس الجدار الخلوى ليفصل بين الخليتين الجديدتين . وتختلف طرق وأمكنة ترسيب المواد المكونة للجدر الخلوية فى الخلايا المنقسمة باختلاف النوع البكتيرى فى البكتيريا الموجبة لجرام مثل أنواع الجنس *Bacillus* والجنس *Streptococcus* فإن مواد الجدار الخلوى الجديد تتخلق فقط عند موقع الحاجز العرضى أى بالقرب من وسط الجدار الخلوى القديم (شكل ٥٩) . ومن مواقع مختلفة كما فى حالة بعض البكتيريات السالبة لجرام (شكل ٥٩) .

وقد تمت بعض الدراسات على بعض البكتيريات السالبة لجرام فبينت أن الخلايا تنقسم بطريقة أخرى غير الانفلاق العرضى إذ تستطيل فيها الخلية البكتيرية من أحد أطرافها ثم يتكون جدارا عرضيا جديدا قرب هذه القمة وان هذا الجدار الجديد يتكون نتيجة للنشاط الافرازى للغشاء السيتوبلازمى . ثم يبطن الجدار الخلوى الجديد من الجانبين بطبقة من الغشاء السيتوبلازمى مكونا



شكل ٥٨ : صورة إلكتروميكروسكوبية تبين تكوين الحاجز العرضى Transverse septum فى خلية *Bacillus polymyxa* فى مرحلة الإنقسام . لاحظ أيضا الإمتداد الداخلى لنمو الجدار الخلوى الفاصل بين الخليتين (X ٧٨٠٠٠) (عن Levey et al. 1973) .

لما يشبه القمة النامية . ويبدو أن مثل هذه القمة النامية تنشأ عند مكان الاستطالة التي تتميز وتحدد مكان الانقسام . وهذه الطريقة تشابه كثيرا عملية التبرعم التي تتميز تكاثر خلايا الخميرة yeast . وهناك بعض البكتيريا وبخاصة تلك التابعة لمجموعة البكتيريا المتبرعمة تتميز بالتكاثر بطريقة التبرعم الحقيقي true budding



شكل ٥٩ : رسم تخطيطي يمثل إضافة الجدار الخلوي في الخلايا النامية سالبة الجرام والموجبة

الجرام (عن Nester et al 1978 )

والتي تتميز بخروج نتوءات من الخلايا الأم يزداد حجمها ثم تنفصل عنها مكونة خلايا جديدة .

وهناك طرق أخرى تنقسم بها البكتيريا وتميز بعض المجاميع البكتيرية ، مثل أفراد رتبة الأكتينوميستينات والتي تتكاثر بتجزؤ خيوطها قميا إلى وحدات صغيرة جداً والتي بنموها تعطى نموًا خيطيا طبيعيا من جديد .

ولا يزال من غير المعروف على وجه التحديد لماذا تقدم الخلية البكتيرية على الانقسام عندما تصل إلى مرحلة معينة من النمو . هل العامل المسبب لحدوث الانقسام هو نسبة السطح إلى الحجم أم نسبة المحتويات النووية إلى كمية البروتوبلازم الخلوي أم احتواء الخلية على كمية معينة من بعض المواد الأيضية اللازمة لإنتاج الطاقة الكافية لحدوث الانقسام ، أم أن الخلية تقدم على الانقسام نتيجة لزيادة نشاط الانزيمات المسؤولة عن تخليق الأغشية والجدر الجديدة ؟ إلى الآن لم يثبت أن واحداً من هذه العوامل هو المسئول الفعلي عن حدوث الانقسام أو الانفلاق الخلوي .

وقد كان يعتقد إلى عهد قريب أن الانفلاق الثنائي هو الطريق الوحيد لتكاثر البكتيريا حيث لم يشاهد حينئذ قدرة البكتيريات على التكاثر الجنسي . وقد أمكن حديثاً إثبات حدوث التكاثر الجنسي في البكتيريات وذلك عن طريق مشاهدة انتقال صفات الآباء إلى الأجيال المتعاقبة . ويشترط لإظهار هذا الانتقال في الصفات الوراثية استعمال آباء مختلفة في واحد أو أكثر من الصفات الثابتة . واستعمل لذلك طفرات من البكتيريا *Escherichia coli* تختلف عن بعضها في كفاءتها البيوكيميائية *biochemical mutants* ، وعند زراعة اثنين من هذه الطفرات معاً في مزرعة واحدة أمكن بعد فترة ، عزل بعض الخلايا الناتجة عن التكاثر الجنسي والتي تجمع بين صفات الأبوين المستعملين وسوف نعود لمناقشة التكاثر الجنسي وظاهرة التعابر وتبادل الصفات الوراثية عند مناقشة الوراثة بالبكتيريا .

وقد نادى كثير من الباحثين بأن البكتيريات يمكنها أن تقدم على نوع من الاتحاد fusion والذي يعرف الآن بالتكاثر الجنسي . وحتى إذا أمكننا إثبات أن الخلايا البكتيرية يمكنها الالتحام أو الاتحاد فإن ذلك يتم بين خلايا متشابهة وليس بين خلايا غير متشابهة ، بمعنى أن التكاثر الجنسي يكون من النوع المتشابه الجاميطات isogamic كالذي يتم مثلا في الفطريات الزيجية وأنه يمكن اعتبار أحد الخلايا الملتحمة موجهة والأخرى سالبة . وأمكن إثبات حدوث التزاوج أو الالتحام سيتولوجيا ووراثيا إلا أن الطرق الأخيرة تعتبر أكثر اقناعا من الأولى . وفيما يلي أمثلة تشير إلى حدوث الالتحام :

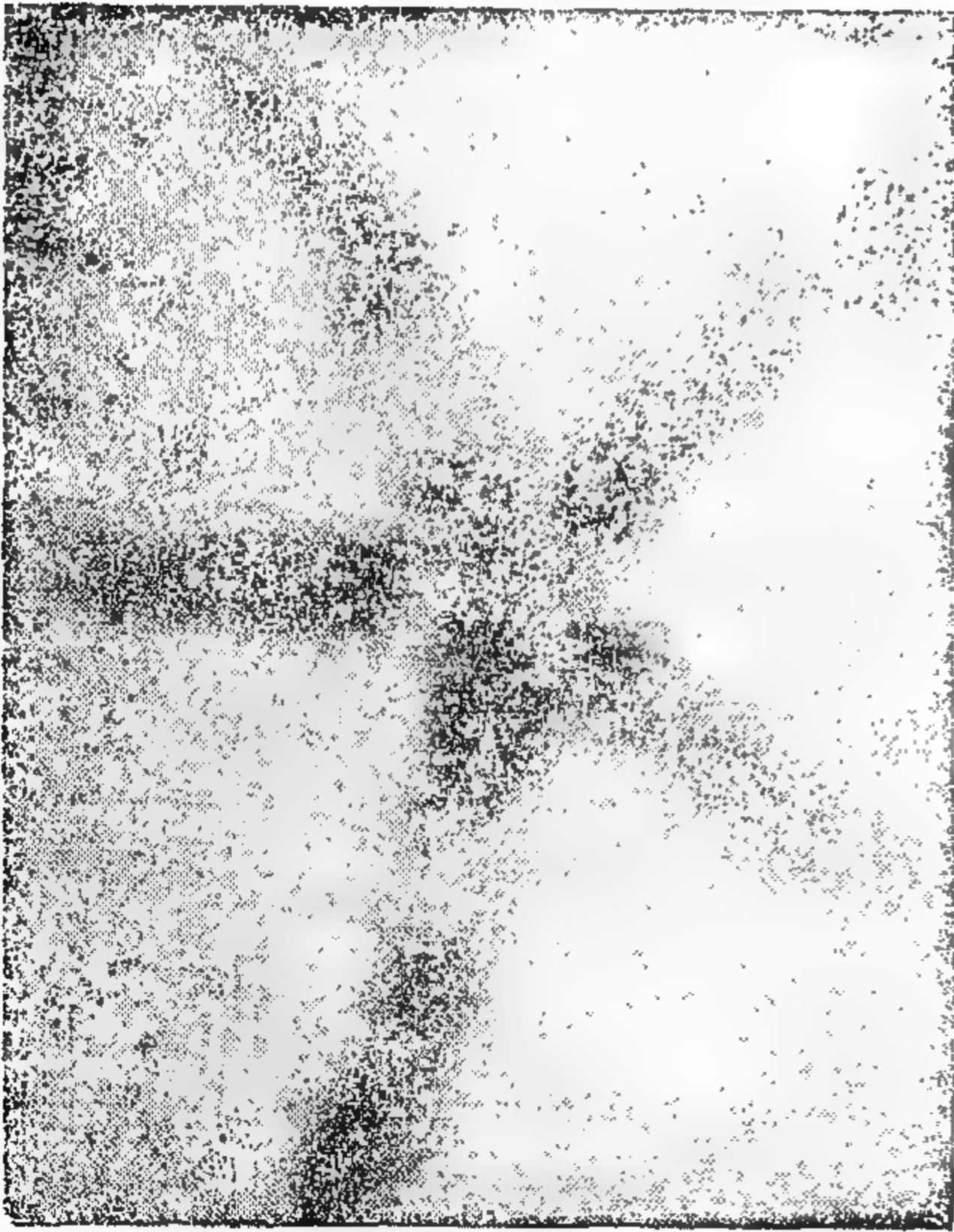
فقبل إقدام البكتيريا التابعة لرتبة *Mycobacterales* على تكوين التركيبات المعروفة باسم الحويصلات الصغيرة microcysts فإن المحتويات النووية تلتحم ببعضها ثم تنقسم من جديد وبعد ذلك تتكون جدر فاصلة . كما عاين

Stoughton (١٩٣٢) وجود

التجمعات النجمية المكونة من ٤ - ٦ خلايا والتي تتميز بها البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* نتيجة

الالتحام التزاوجي sexual fusion . وعند صبغ هذه التجمعات بتفاعل فيولوجين لوحظت المحتويات النووية متجمعة في الخلايا في مركز الشكل التجمعي (شكل ٦٠) . وقد لوحظ أن الخلايا تستطيع بدرجة واضحة وهي مكونة للشكل النجمي وأنها تكون مرتبطة ببعضها

بقوة حيث أن عمليات الفسيل والتفريق لا تفصلها . كما يصعب فصلها أيضا من بعضها ميكانيكيا باستعمال أجهزة -



شكل ٦٠ : صورة الكترولوميكرو سكوبية لتجمع نجمي الشكل لخلايا البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* لاحظ أن الخلايا تبدو ذات جدر منفصلة وأن المحتويات النووية للخلايا متجمعة في مركز الشكل النجمي .



micromanupulators وهذا يبين أن التجمع في الشكل النجمي هو نتيجة للتزاوج وليس نتيجة لتشابك الأسواط. وفيما لاحظ Braun و Elord (١٩٤٦) تجمع خلايا البكتيريا *Xanthomonas malvacearum* في أزواج واقترحا أن هذا التجمع ما هو إلا نوع من الالتحام التزاوجي.

#### تقدير النمو البكتيري Quantitative Measurements of Bacterial growth

إن طرق تقدير النمو البكتيري كما تعتمد على طبيعة عمليات النمو نفسها بمعنى أنها تعتمد على الزيادة في كمية البروتوبلازم البكتيري أو في عدد الخلايا المتكونة نتيجة للانقسام. وفي بعض الأحيان قد يمكن قياس نشاط واحد أو أكثر من النظم الانزيمية الخلوية بصفقتها تمثل أحد المكونات البروتوبلازمية. ويقدر النمو كميًا بطرق عديدة مبنية على الأسس الآتية :

أولاً - تقدير عدد الخلايا cell count مباشرة (باستعمال المجهر) أو بطريقة غير مباشرة (باجراء عد المستعمرات).

ثانياً - تقدير الكتلة الخلوية مباشرة عن طريق تقدير الوزن الرطب أو الجاف أو عن طريق تقدير كمية النيتروجين الخلوئ أو بطريقة غير مباشرة بتقدير درجة تعكير البيئة.

ثالثاً - تقدير النشاط الخلوئ وهي طريقة غير مباشرة لتقدير النمو وذلك بمقارنة النشاط الانزيمي المتحصل عليه بكمية النمو المراد قياسها. وفيما يلي الطرق المتبعة لتقدير النمو البكتيري :-

##### أولاً : تقدير عدد الخلايا

١ - تقدير عدد الخلايا مباشرة بالمجهر في تحضيرات مصبوغة من المزرعة البكتيرية المراد قياس كمية نموها. وفيما يلي الخطوات المتبعة لتقدير بكتيريا اللبن طبقاً لطريقة Breed :-

ينشر حجم معلوم من المزرعة أو المعلق البكتيري (٠.١ مل) بانتظام على مكان متوسط من الشريحة. وبعد تثبيت الغشاء الناتج وصبغه يفحص الغشاء

ميكروسكوبيا ثم يجرى عد البكتيريا الفردية : ولما كان من الصعب عد جميع خلايا الغشاء بالدقة اللازمة ، فيكتفى بعد الخلايا التي تشاهد في عدة حقول مجهرية ثم يحسب عدد الخلايا في المليمتر الواحد من العينة الأصلية من متوسط عدد الخلايا في الحقل المجهرى .

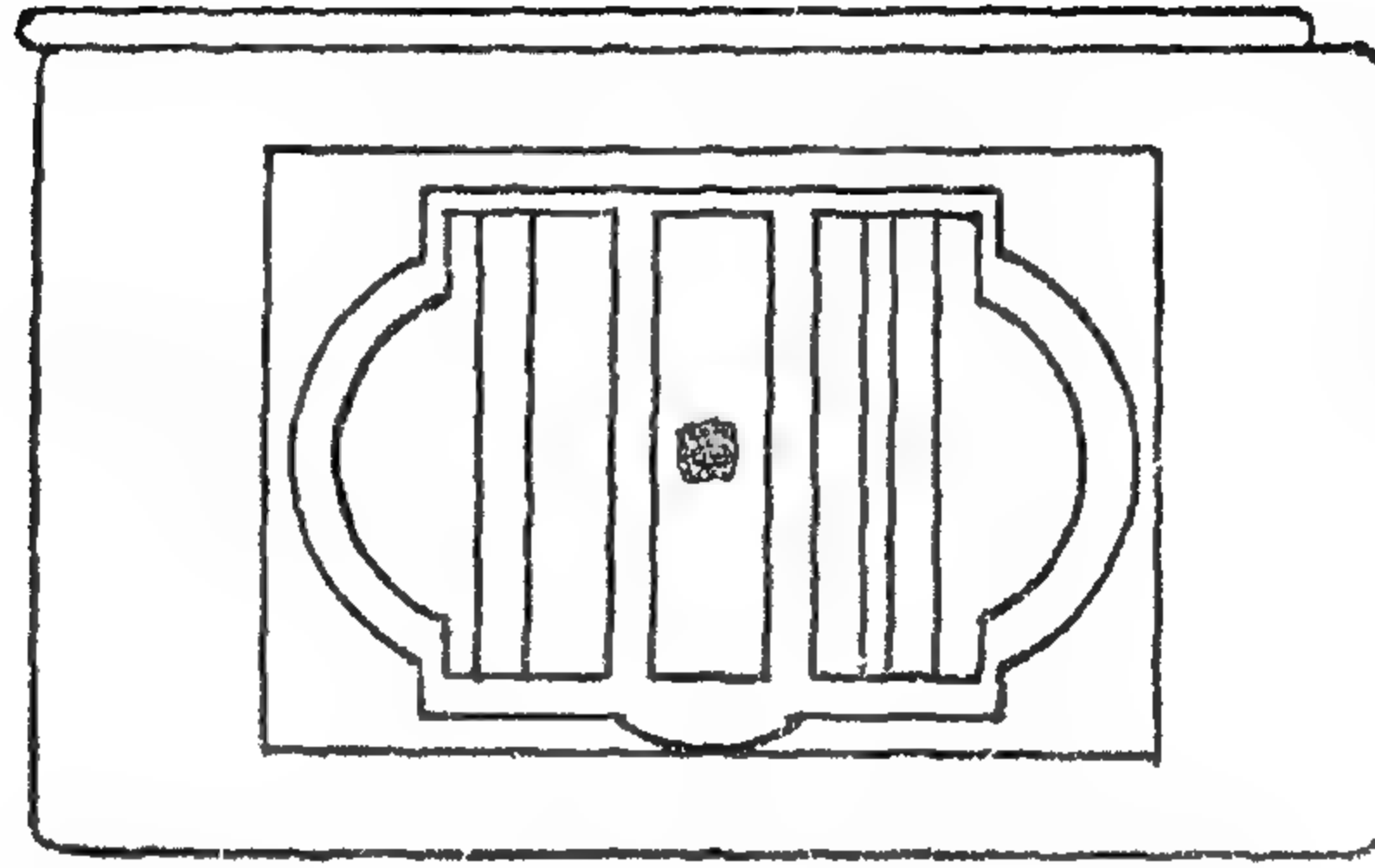
هذا ويمكن استعمال الشرائح الخاصة بتقدير تعداد كرات الدم مثل شريحة بيتروف هاوسر Petroff - Hausser (شكل ٦١) لأجراء العد المباشر للخلايا البكتيرية . حيث يوضع المعلق البكتيرى فى غرفة صغيرة مجوفة ومقسم جزء منها بأبعاد معاومة ثم تغلى بغطاء شريحة زجاجى يفضل ان تفحص الخلايا باستعمال طريقة المجهر ذى الحقل المظلم أو مجهر تباين الأطوار ، فالخلايا تكون اذن غير مصبوغة لذلك يصعب رؤيتها بالمجهر الضوئى العادى . وحيث أن غرفة العد مقسمة إلى مساحات معاومة وان سمك طبقة المعلق البكتيرى بها تكون محدودة فيمكن اذن التعرف على حجم المعلق فوق كل مساحة أو مربع من المربعات المشاهدة بالحقل المجهرى . اذن فالمفروض تقديره هو متوسط عدد الخلايا فى المربع الواحد ثم بضرب هذا المتوسط فى معامل خاص يحول هذا الرقم إلى عدد الخلايا فى المليمتر الواحد من المزرعة البكتيرية أو المعلق البكتيرى المستعمل .

وتتميز طريقة العد المباشر ببساطة أجهزتها وبالوصول على نتائج سريعة وامكان ملاحظة الشكل المورفولوجى للخلايا أثناء عدها . ومن عيوب هذه الطريقة عدم امكان التمييز بين الخلايا الحية والأخرى الميتة ، كما أنها ليست دقيقة فى حالة المعلقات البكتيرية الكثيفة أو تلك المخففة بدرجة كبيرة علاوة على أن إجراء العد الفردى للخلايا يعتبر من الأمور المجهدة للبصر .

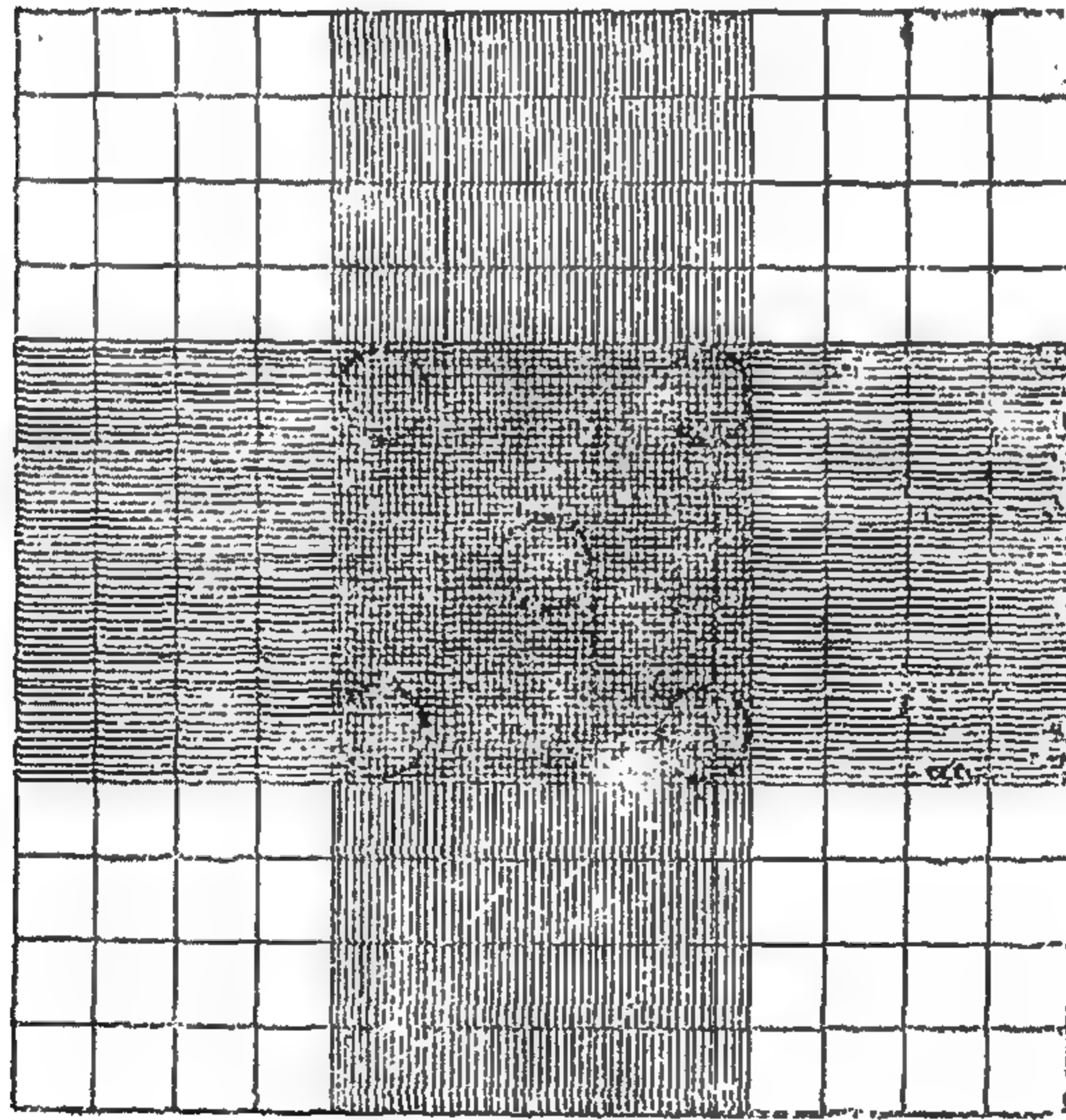
٢ - تقدير عدد الخلايا ذات القدرة على التكاثر تحت الظروف المناسبة لنموها : ويجرى ذلك باستعمال طريقة عد المستعمرات colony count أو طريقة العد بالأطباق plate count ، وفى هذه الطريقة توضع كمية معلومة من اللقاح فى طبق بترى معقم ثم يصب عليه كمية من بيئة الآجار المغذى المسالة



أ



ب



ج

شكل ٦١ : شريحة بيتروف - هاوسر Petroff-Hausser لتقدير عدد الخلايا البكتيرية  
أ - قطاع طولي مستعرض للشريحة في موضع يمر بمركز الشريحة . يلاحظ كيفية وضع غطاء الشريحة  
ب - منظر عام للشريحة . المربع الغامق في مركز الشريحة هو المنطقة المقسمة والمبينة في ج . حيث  
يقدر عدد خلايا البكتيريا في عدد من المربعات المتماثلة كتلك المحددة بدوائر في شكل ج .

(٥٤٥ م) ويخلط الاثنان جيدا بتحريك الطبق حركة رحوية ويترك الآجار ليتصلب . وسوف تنحصر بعض الخلايا الفردية في الآجار المتصلب وعلى سطحه وحيث أنه من المعروف أن كل خلية عند تكاثرها تعطى كتلة من الخلايا المتجمعة تعرف باسم المستعمرة colony إذن فتقدير عدد المستعمرات في الطبق يكون متلازما مع عدد الخلايا الحية في كمية اللقاح المستعملة. وطريقة العد في الأطباق تتطلب اجراء تخفيف متسلسل للعينة بدرجة تسمح بظهور عدد من المستعمرات في الطبق الواحد يتراوح بين ٣٠ - ٣٠٠ مستعمرة حيث أنه في نطاق هذا العدد تتوفر الدقة اللازمة لاجراء العد ويقل تداخل المستعمرات الناتجة بعضها ببعض .

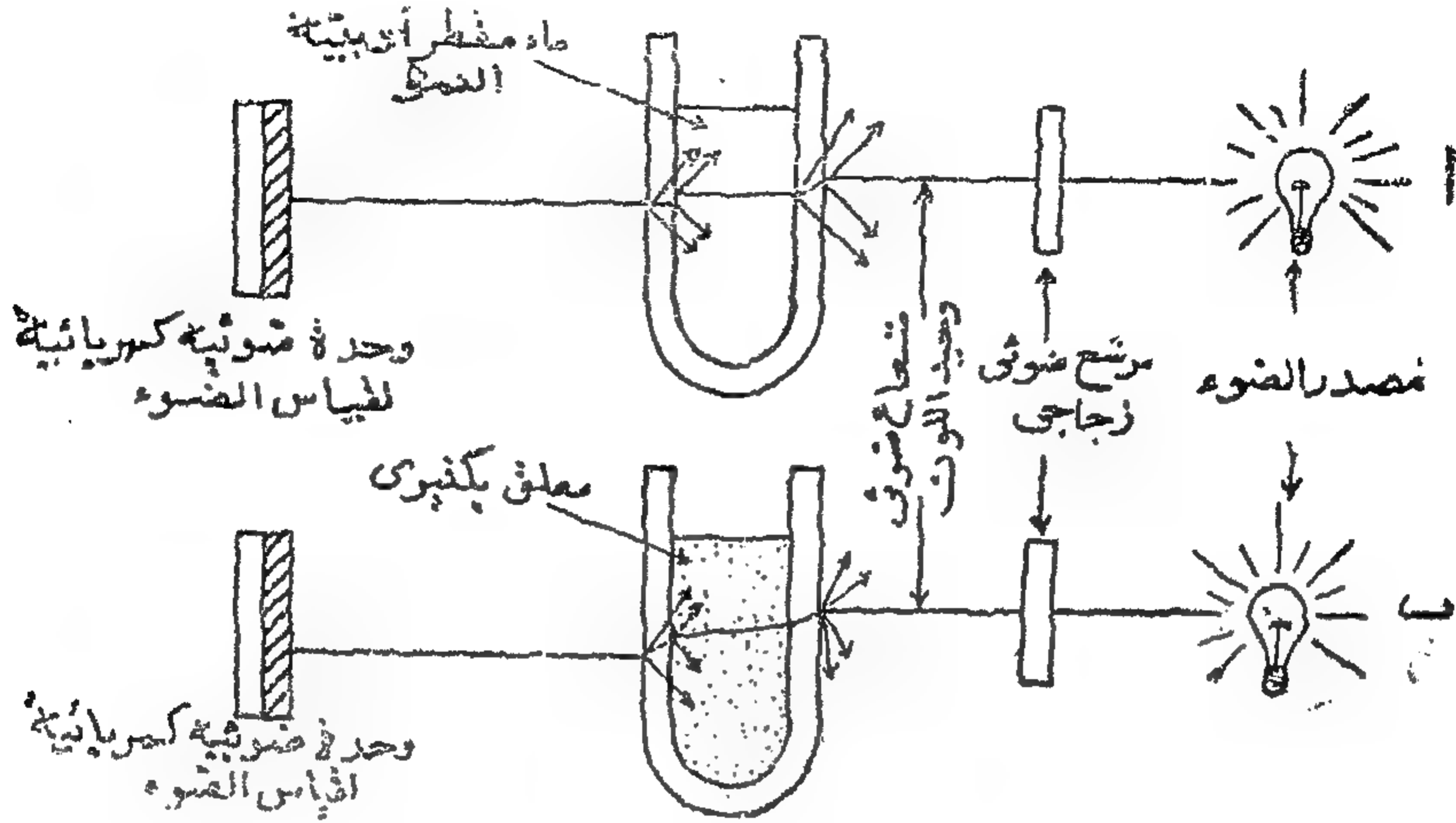
وحيث أن هذه الطريقة تعتمد كما سبق أن بينا ، على أن الخلية الواحدة ينتج عنها مستعمرة بكتيرية واحدة فانه يجب أن يفترض أيضا أن كل الخلايا المكونة للمجموع تكون نامية في ظروف واحدة . وذلك لأنه إذا احتوى المجموع على أكثر من نوع بكتيري وان هذه الأنواع تختلف في احتياجاتها من الظروف البيئية ، فان هذه الطريقة قد لا تمثل الحقيقة ، وعلاوة على ذلك فان بعض الخلايا البكتيرية تتحد مع بعضها في مجاميع أو تجمعات يصعب فصلها إلى خلايا فردية فيقل عدد المستعمرات في هذه الحالة عن عدد الخلايا الحية الفردية . وبالرغم من الانتقادات التي توجه إلى هذه الطريقة إلا أنها لازالت تتبع بكثرة وبصفة روتينية في تقدير عدد البكتيريا في اللبن ، والمياه ، والأغذية وغيرها من المواد . كما يمكن استعمالها لتقدير النمو البكتيري في العينات ذات الكثافات البكتيرية المختلفة .

ثانيا : تقدير الكتلة الخلوية :

١ — تقدير كثافة المعلق البكتيري بالقياسات البصرية optical measurements باستعمال الطرق التلوينية colorimetric أو الاسبكتروسكوبية spectrophotometric أو طرق تقدير درجة التعكير turbidimetric : إذا مرر شعاع ضوئي خلال أنبوبة محتوية على خلايا بكتيرية عالقة في محلول معين فان هذا الشعاع



سوف يتعرض أثناء سيره خلال هذه الأنبوبة إلى ما يأتي (شكل ٦٢) :



شكل ٦٢ : رسم تخطيطي يبين كيفية عمل جهاز قياس الألوان الضوئي في قياس النمو البكتيري  
Photoclectric colorimeter  
(أ) خطوات ضبط الجهاز . (ب) تقدير درجة تعكير المعلق البكتيري .

يصطدم الشعاع بالسطح الخارجي من الأنبوبة الزجاجية وينعكس بعض منه ويمر الجزء الباقي منكسرا خلال سمك الجدار الزجاجي للأنبوبة حيث يقابل السطح الداخلي منها فينعكس بعضه ويمر ما يتبقى منه منكسرا أيضا داخل معلق الخلايا البكتيرية . فتمتص جزيئات السائل والخلايا البكتيرية بعضا من هذه الأشعة وتقلل كثافتها . وأثناء خروج الشعاع من الجانب الآخر من الأنبوبة يواجه نفس الانعكاسات والانكسارات والبعثرة الضوئية التي مر بها أثناء دخوله . فاذا استعملت أولا أنبوبة تحتوي على السائل العالقة به الخلايا البكتيرية - سواء كان ماء مقطرا أو بيئة - وتمرر الشعاع ثم يضبط الجهاز المستعمل لقراءة كثافة الضوء بحيث تكون النسبة المئوية للضوء النافذ % trans-

mittance مساوية ١٠٠٪ فبذلك يمكن إلغاء تأثير الأنبوبة الزجاجية والبيئة العالقة بها الخلايا البكتيرية (شكل ٦٢ أ) . وإذا وضع المعلق البكتيري بعد ذلك في

نفس الأنبوبة وقرئت نسبة نفاذية الضوء بالجهاز (شكل ٦٢ ب) فستكون أقل من ١٠٠٪. ويلاحظ أنه كلما زاد تعكير البيئة كلما قلت القراءة ويراعى اختيار الضوء الوحيد اللون المناسب لكل تحضير أو معلق بكتيرى ويجرى ذلك باختبار عدة مرشحات ضوئية توفر موجات ضوئية مختلفة الأطوال) حيث يستعمل منها ما يمكن للمعلق البكتيرى أن يمتص أكبر كمية ممكنة من الضوء النافذ خلاله .

من ذلك نرى أنه يمكن قياس الضوء النافذ خلال مزرعة بكتيرية سائلة أو معلق بكتيرى بالدقة الكافية بإستعمال وحدة ضوئية حساسة فى جهاز Spectrophotometer أو فى جهاز colorimeter أو جهاز turbidimeter وتقدير الكثافة الضوئية optical density أو على أساس النسبة المئوية لنفاذية الضوء ، وهناك علاقة بين التقديرين فالكثافة الضوئية

= ٢ - لو غاريم النسبة المئوية لنفاذية الضوء . وعند تقدير الكثافة الضوئية فإنها تتناسب طرديا مع كمية النمو . وإذا ما قدرت النسبة المئوية لنفاذية الضوء فإنها تكون متلازمة عكسيا مع عدد الخلايا ، وتعرف هذه الطريقة بقياس التعكير وهى من الطرق المتبعة بكثرة فى دراسة البكتيريولوجيا لسرعتها ودقتها ولكن لها بعض العيوب منها أن المزرعة التى تحتوى على عدد ١٠<sup>٦</sup> خلية/مل تعتبر رائقة فى حين أن مزرعة أخرى تحتوى ١٠<sup>٦</sup> خلية/مل تعطى عكارة يمكن بالكاد قياسها . وكذلك لا يمكن إتباع هذه الطريقة على المواد الملونة بعمق كبير أو التى تحتوى على مواد عالقة أخرى غير الخلايا البكتيرية .

٢ - تقدير النمو البكتيرى بقياس محتويات الخلايا من النيتروجين : معروف أن غالبية المحتويات الخلوية البكتيرية عبارة عن بروتينات وحيث أن الآزوت هو أهم مكونات البروتين فإن تقدير كمية النيتروجين فى الخلايا البكتيرية يكون متلازما مع عددها وحجمها . وتقدر نسبة النيتروجين بالبروتين البكتيرى بحوالى ١٤٪ من الوزن الجاف للبروتوبلازم وبالرغم من أن هذه

النسبة تتغير تبعا للظروف البيئية وتبعا للنوع البكتيرى المختبر إلا أنه يمكن التغاضى عن هذه الاختلافات . ولتقدير النمو البكتيرى عن هذا الطريق يجب جمع الخلايا أولا بالقوة المركزية الطاردة وغسلها عدة مرات لتخليصها من البيئة الغذائية ثم يجرى عليها تحليل كيمائى يمكن عن طريقه تقدير كمية النيتروجين كليا . وتقدير النيتروجين البكتيرى يعتبر من الأمور الصعبة ولا يمكن اجراؤه إلا فى العينات الخالية من أى مصدر نيتروجينى غير الخلايا البكتيرية . وعلاوة على ذلك تستعمل هذه الطريقة فقط للمعلقات الكثيفة والمحتوية على خلايا بكتيرية مغسولة .

٣ — تقدير الوزن الرطب أو الجاف للنمو البكتيرى : لتقدير الوزن الرطب تفصل خلايا المزرعة السائلة بعد ترسيبها جيدا بالقوة المركزية الطاردة ثم تغسل الخلايا جيدا بالماء المقطر ويكرر المعاملة بالقوة المركزية الطاردة ثم تعلق فى حجم من الماء المقطر مساويا للحجم الأصى للمزرعة . ثم يقدر وزن حجم معلوم ( ١ مل ) من المعلق الناتج .

ولتقدير الوزن الجاف للخلايا ، يجفف حجم معلوم من المعلق السابق ( ١ مل ) على درجة ١١٥°م لمدة ١٢ ساعة . ثم يوزن بعد تبريده ويقدر الوزن الجاف للخلايا .

وأحيانا يحسب الوزن الجاف مباشرة على أساس أنه يمثل ١٠٪ من الوزن الرطب للخلايا إلا أن هذه النسبة تختلف باختلاف الأنواع البكتيرية .

٤ — يمكن تقدير النمو البكتيرى بتقدير حجم الخلايا دون وزنها ويجرى ذلك بعد معاملة المزرعة البكتيرية بالقوة المركزية الطاردة عالية السرعة فى أنابيب طرد مركزى مدرجة من أسفل إلى أعلى ، ويقدر حجم الراسب بالأنبوبة ثالثا : تقدير النشاط الحلوى :

قد يقدر النمو البكتيرى بطريقة غير مباشرة بتقدير التغيرات الكيماوية المعينة التى تحدث لأحد مكونات البيئة . فمثلا إذا عرف أن نوعا بكتيريا ينتج

أحماضا بتخميره لسكر الجلوكوز ، فكمية الحمض المتكونة تحت ظروف معينة وخلال فترة معينة تكون متلازمة مع المجموع البكتيرى فى المزرعة . وحقيقة أن تقدير كمية الأحماض أو ناتج تفاعل آخر يعتبر من الطرق غير المباشرة لتقدير النمو البكتيرى ويستعمل فقط تحت ظروف بحثية خاصة .

### دورة النمو Growth Cycle

لقد وفرت الدراسات التى تمت على نمو المزارع البكتيرية فرصة فريدة لدراسة المشاكل العشوائية فى البكتيريا وغيرها من الكائنات الحية الدقيقة . وحيث أن الأزواج الجنسية فى البكتيريا ليس شرطاً من شروط نموها ، فالخلية البكتيرية الواحدة تكفى لإنشاء مجموع بكتيرى جديد . وهناك مجموعة من الطرق البحثية المختلفة تعتمد اعتماداً كلياً على هذه الحقيقة مثل طرق زرع البكتيريا وعزل وتنقية الأنواع البكتيرية وإستعمال الطفرات البيوكيميائية وإيجاد سلالات مقاومة للمواد الكيماوية السامة .

وعند تلقيح بيئة غذائية بخلية بكتيرية واحدة فإنها تبدأ فى الإنقسام إلى خليتين وتستمر الخلايا الجديدة الناتجة فى الإنقسام المتكرر . والوقت الذى ينقضى بين تكوين الخلية وإقدامها على الإنقسام يعرف بالوقت الجيلى generation time وكما سيتضح فيما بعد فإن فترة الوقت الجيلى هذه تعتمد على عدة عوامل منها السلالة البكتيرية ، وتركيب البيئة الغذائية ، ودرجة الحرارة ، وعمر المزرعة ويختلف الوقت الجيلى بدرجة كبيرة باختلاف النوع البكتيرى تحت الظروف البيئية المثالية فهى تتراوح فى البكتيريات عموماً بين أقل من ٢٠ دقيقة إلى عدة ساعات .

ويمكن تحديد تأثير الظروف البيئية المختلفة على الوقت الجيلى للبكتيريات بإستعمال المزارع البكتيرية النقية وتقدير معدل النمو Rate of growth على درجات الحرارة المختلفة أو فى وجود مصادر نيتروجينية مختلفة .

فإذا افترضنا لقاء بكتيريا مكوناً من خلية بكتيرية واحدة لقحت به بيئة



غذائية طازجة . فإذا حدث الإنقسام فإن عدد الخلايا الناتجة (ب) يكون كالآتي  
 عدد الخلايا بعد الجيل الأول ب  $= 1 \times 2 = 2 \times 1 = 2$  خلية  
 عدد الخلايا بعد الجيل الثاني ب  $= 1 \times 2 \times 2 = 2^2$  أو ٤ خلية  
 عدد الخلايا بعد الجيل الثالث ب  $= 1 \times 2 \times 2 \times 2 = 2^3$  أو ٨ خلية  
 إذن فعدد الخلايا الناتجة (ب) بعد مرور عدد (ن) من الأجيال :

$$ب = 1 \times 2^n \text{ خلية}$$

وعادة لا تبدأ المزارع البكتيرية بخلية واحدة بل تبدأ بعدد من الخلايا قد يتراوح بين ١٠٠ — ١٠٠,٠٠٠ خلية فإن المعادلة في هذه الحالة تعدل كما يلي  
 $ب = أ \times 2^n$  حيث « أ » ترمز إلى عدد الخلايا في اللقاح المستعمل . وفي أى فترة خلال نمو المزرعة يمثل عدد الخلايا البكتيرية مضاعفات للرقم ٢ . وحيث أن اللوغاريتمات هي عبارة عن مضاعفات للرقم الأساسى فإنه من المستحسن إستعمال لوغاريتمات أعداد الخلايا البكتيرية في إجراء المنحنيات الخاصة بالنمو بدلا من الأعداد نفسها (شكل ٦٣) . وواضح من المعادلة الأخيرة ومن المنحنيات المبينة (شكل ٦٣) أنه عندما يثبت الوقت الجيلى فإن منحنيات النمو التى تصمم على أساس لوغاريتمات أعداد الخلايا مع زمن النمو تمثل خطوطا مستقيمة . وحيث أن معظم التجارب البكتيرية فى المزارع تبدأ بلقاح يحتوى على ألف خلية بكتيرية أو أكثر فإنه يسهل إستعمال مقياس لوغاريتمى للقاعدة . ١٠

ويمكن كتابة المعادلة  $ب = 1 \times 2^n$  بإستعمال اللوغاريتمات كما يلي :

$$\log_2 ب = \log_2 1 + n \log_2 2$$

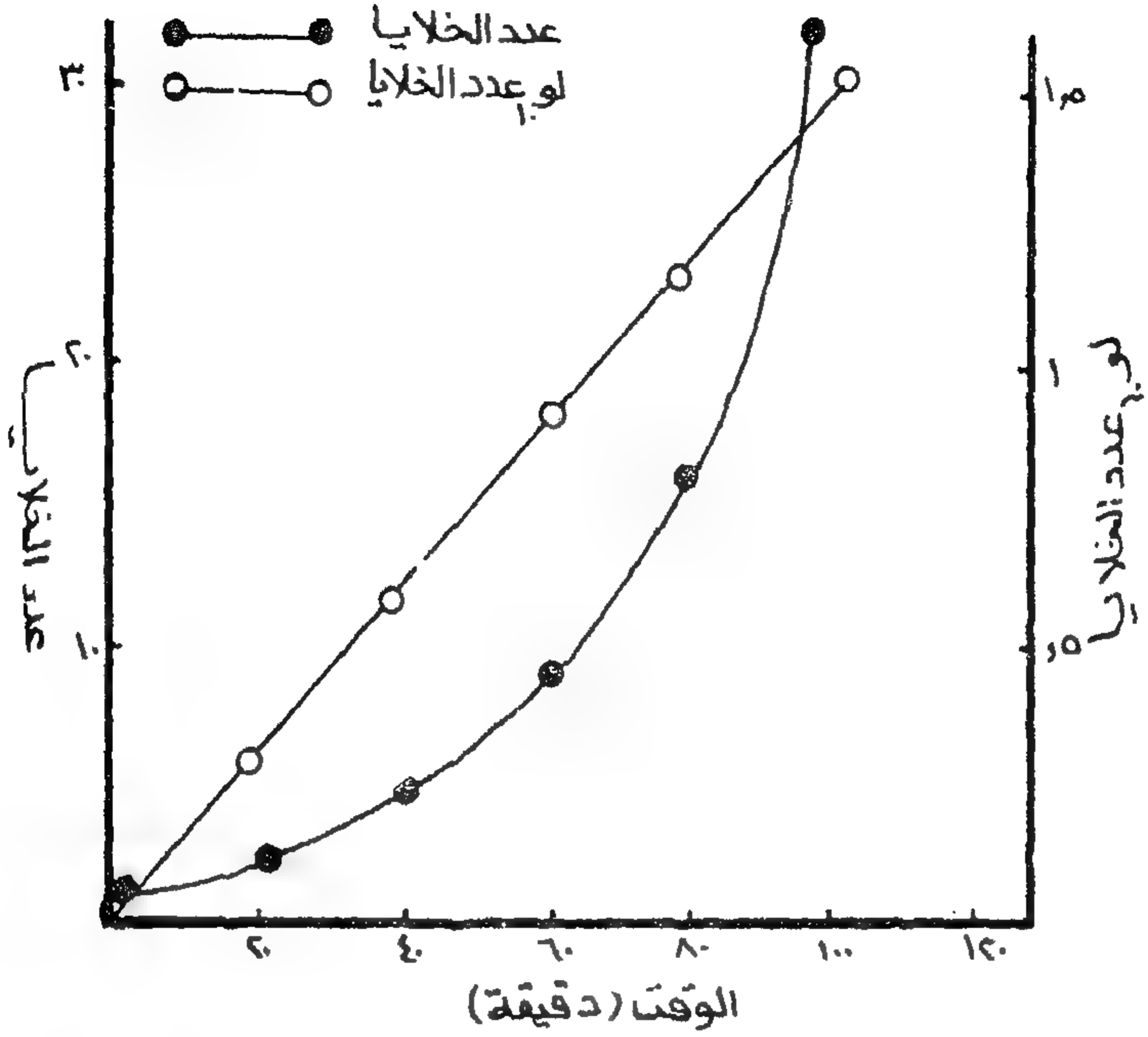
$$= \log_2 1 + n$$

ولمعرفة عدد الأجيال (ن) التى حدثت بين تلقیح البيئة وأخذ العينة لتقدير

عدد الخلايا بها تتبع المعادلة التالية :

$$ن = \frac{\log_2 ب - \log_2 1}{\log_2 2} = \frac{\log_2 ب - \log_2 1}{0.3010}$$

ويمكن حساب متوسط الوقت الجيلى generation time (ج) خلال



شكل ٦٣ : مقارنة بين منحنيات النمو باستعمال البيانات على أساس العدد الفعلي للخلايا ولوغاريتمات هذه الأعداد للقاعدة ١٠ ، لاحظ أن الإنقسام يحدث كل ٢٠ دقيقة

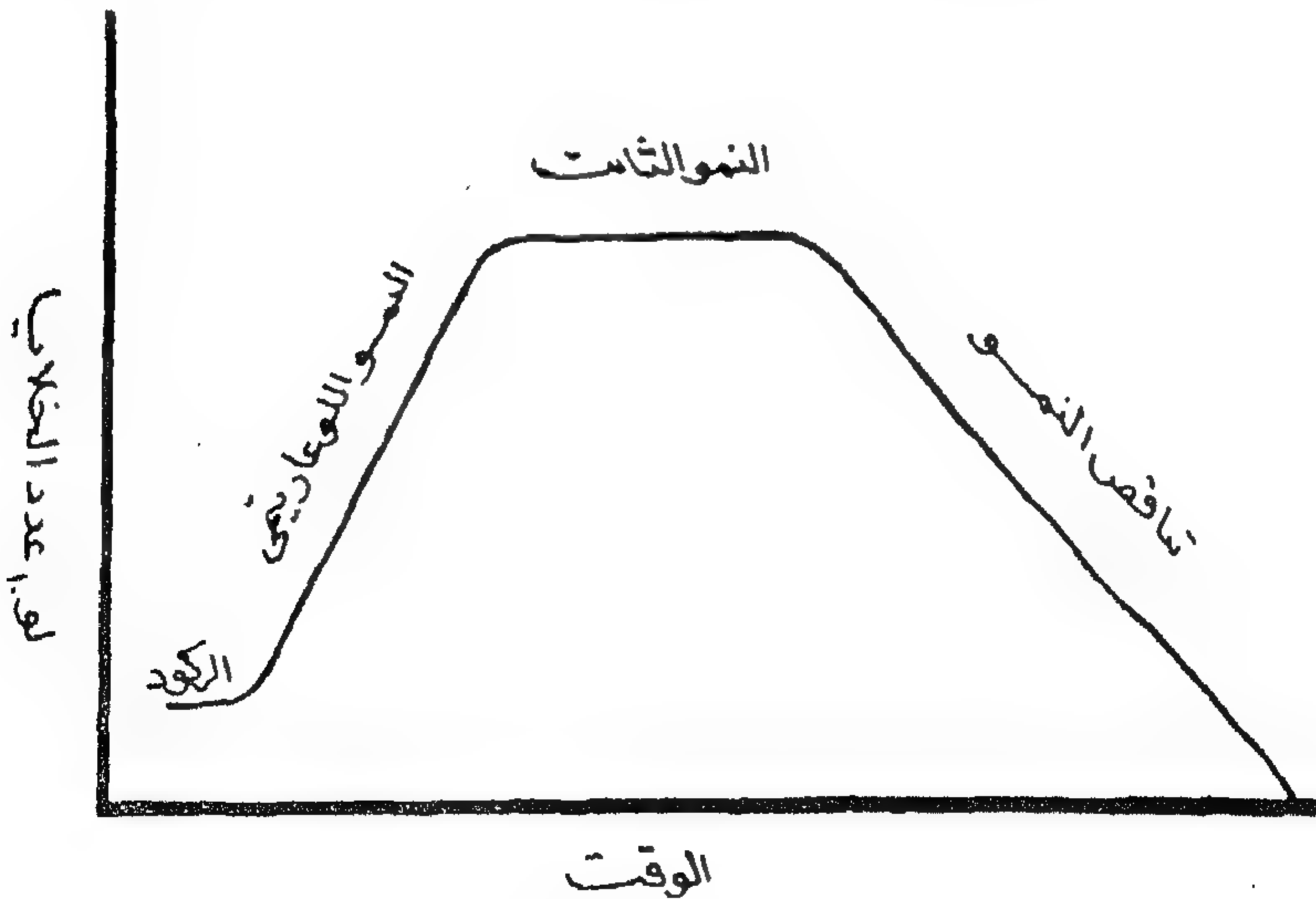
الفترة (ت) التي مرت بين التلقيح وأخذ العينة عند التعويض عن قيمة (ن) في المعادلة السابقة كما يلي :

$$ج = \frac{\text{الوقت الذي يمر بين التلقيح وأخذ العينة}}{\text{عدد الأجيال}} = \frac{ت}{ن}$$

$$ج = \frac{ت}{\text{لوب - لوا}} = \frac{ت \times ٠,٣٠١٠}{\text{لوب - لوا}}$$

والمثال النظري السابق الإشارة إليه والذي بدأت المزرعة فيه بخلية بكتيرية واحدة والمبين منحنى نموه (شكل ٦٣) يبين أن الخلية بدأت في الانقسام بعد ٣٠ دقيقة من وضعها بالبيئة . وأن الوقت الجيلي ظل ثابتاً في الأجيال المتتابعة . إلا أنه عندما تلقح البيئات الغذائية بكمية من اللقاح فإن الانقسام الخلوى لا يتم مباشرة ولا يظل الوقت الجيلي ثابتاً إلا بعد إنقضاء عدة أجيال . وأن المنحنى الحقيقى لنمو البكتيريا يتبع ذلك المبين فى (شكل ٦٤) .

يلاحظ من المنحنى أن البكتيريا تتوقف عن الانقسام لفترة عقب تلقيح البيئة الغذائية . وبعد إنتهاء هذه الفترة تبدأ الخلايا فى الانقسام ولكن ببطء ملحوظ ثم يسرع معدل الانقسام حتى يصل إلى درجة يثبت عليها سرعة الانقسام . وتعرف الفترة التى يتوقف فيها الانقسام بإسم طور الركود Lag phase وفى هذه الفترة تحدث عدة تغيرات كيميائية داخل الخلية بالرغم من إمتناع الخلية عن الانقسام . والفترة من دورة النمو التى تنقسم فيها الخلايا بسرعة واضحة والتى يثبت فيها الوقت الجيلي تعرف بطور النمو اللوغاريتمى logarithmic or exponential growth phase ويرمز له عادة بالرمز (Log phase) .



شكل ٦٤ : رسم بياني لمنحنى نمو مزرعة بكتيرية يبين مواضع الأطوار المختلفة من النمو .

ويميل بعض الباحثين إلى إعتبار المرحلة الأولى من الطور اللوغاريتمى والى يظهر بها زيادة متدرجة فى تعداد الخلايا طوراً منفصلاً يعرف بطور النمو المتزايد accelerated - growth phase ، والسبب فى تدرج النمو فى هذه الفترة أن الخلايا جميعاً لا تكمل فترة ركودها فى وقت واحد وينتهى هذا الطور القصير بانتظام معدل النمو وبثبات الوقت الجيلى ودخول الخلايا فى الطور اللوغاريتمى .

وينتهى الطور اللوغاريتمى عندما يبطىء معدل التكاثر وتزداد فترة الوقت الجيلى ويثبت تعداد الخلايا الحية بالمرزعة ، عندئذ يقال أن المزرعة قد دخلت فى طورها الثابت من النمو Stationary phase وفى خلال هذه الفترة يكون هناك توازن بين عدد الخلايا المنقسمة وعدد الخلايا الميتة .

وقد يختل هذا التوازن حيث يزداد تعداد الخلايا الميتة عن تعداد الخلايا المنقسمة، أو بمعنى آخر لا يكون هناك تعويض لمعدل الموت بتكوين خلايا جديدة ويعرف هذا الطور من النمو بطور الموت أو تناقص النمو decline or death pahse

هذا هو تسلسل أحداث النمو عندما تلقح بيئة غذائية بلقاح بكتيرى ، وبالرغم من أن شكل المنحنى قد يتغير قليلاً تبعاً للنوع البكتيرى أو لظروف النمو إلا أن اتجاهاته وأطواره لا تختلف كثيراً عن تلك المبينة (بشكل ٦٤) .  
ويحسن هنا مناقشة الطرق التى يتم بها النمو والظروف التى يتأثر بها فى كل من الأطوار السابق الإشارة إليها .

#### أولاً : طور الركود Lag phase

إن عدم حدوث الإنقسام فى هذه الفترة لا يجب أن يفهم منه أن الخلايا تتوقف عن النمو الفردى كلية . فالركود الملحوظ فى هذا الطور هو ركود فى عملية الإنقسام فقط ، ولكنه ليس ركوداً فى عمليات التخليق البروتوبلازمى بداخل الخلية .

ومن الدراسات السيتولوجية التى أجريت على الخلايا فى هذا الطور تبين أنها تزداد فى الحجم لتصل إلى ضعف أو ثلاثة أضعاف حجمها الأصيل وكما سبق أن بينا أن الزيادة فى الحجم تلاحظ بدرجة أكبر فى البكتيريا العصوية



عنها في الكروية . وقد بينت الدراسات البيوكيميائية زيادة معدل النشاط الأيضي للخلية خلال فترة الركود . كما بينت أيضاً زيادة كمية المكونات الأساسية للمحتويات النووية purines & pyrimidines والمحتويات البروتينية بالخلية ، إلا أن زيادة نسبة البروتين تكون أقل نسبياً من الزيادة في المحتويات النووية .

والدراسات الكيماوية أظهرت أن هناك زيادة في محتويات الخلية من RNA خلال هذه الفترة ، وهو من المكونات الأساسية للستوبلازم في حين أن محتويات الخلية من DNA المميز للمحتويات النووية لم تتأثر نسبته بالخلية. وقد لوحظ أن محتويات الخلية البكتيرية من RNA عندما تدخل في الطور اللوغاريتمي أى الطور التالى لطور الركود تكون متناسبة تناسباً عكسياً مع طول الوقت الجيلى في حين أن محتويات الخلية من DNA لا تتأثر بطول أو قصر الوقت الجيلى . وقد أظهرت الدراسات البيوكيميائية الأخرى زيادة في معدل تنفس الخلية البكتيرية أثناء فترة الركود وفترة النمو المتزايد عنها في الأطوار التالية من النمو ويرجع ذلك إلى الزيادة في حجم البروتوبلازم بالخلية حينئذ .

وإذا أخذ لقاح من مزرعة بكتيرية أثناء طورها اللوغاريتمي ولقيحت به بيئة جديدة فإنه يمكن تقليل أو تلافى طور الركود حيث أن الخلايا وهى في الطور اللوغاريتمي تكون مجهزة بكل ما يؤهلها للانقسام المباشر عقب التلقيح . وبالمثل يمكن تقليل فترة الركود باستعمال كمية كبيرة من اللقاح من مزارع في مراحلها النهائية من النمو ، ويعمل ذلك بزيادة كمية المواد المشجعة للانقسام التى يحملها اللقاح الكبير الحجم والذى يعتقد أنه RNA أو المواد المكونة له والتى ثبتت زيادة نسبتها بالخلايا أثناء طور الركود ، وأن هذه المواد المحمولة قد تنطلق في البيئة العالق بها اللقاح أو تكون قد إنطلقت من الخلايا الميتة عقب تحللها الذاتى ( autolysis ) ، في الأطوار النهائية من النمو .

ومن ناحية أخرى يمكن إطالة فترة طور الركود عند تلقيح البكتيريا في

بيئة تختلف عن تلك التي كان اللقاح ناميا بها حيث أن تأقلم اللقاح للنمو على البيئة الجديدة يتطلب وقتاً أطول . ويمكن تقصير فترة الركود للبكتيريات غير ذاتية التغذية بنقل اللقاح من مزرعة نامية ببيئة بسيطة إلى بيئة معقدة كما يمكن إطالة فترة هذا الطور لمثل هذه البكتيريات عند إجراء التلقيح من مزرعة نامية في بيئة معقدة إلى بيئة بسيطة .

والبكتيريا تكون أكثر حساسية للتغيرات الحرارية وهي في طور ركودها فعندما تكون درجة الحرارة قريبة من الدرجة المثالية للنمو يمكن تقصير فترة الركود كما أن الزيادة أو النقص في درجة الحرارة عن الدرجة المثالية يطيل من فترة هذا الطور . والخلايا أثناء طور الركود وكذلك أثناء طورها اللوغاريتمي من النمو تكون أكثر حساسية للحرارة المنخفضة ، حيث أنها تقتل بسرعة عقب تعريضها المفاجيء للحرارة المنخفضة بدرجة أكبر من تلك التي تكون قد وصلت إلى طورها الثابت من النمو . هذا والخلايا البكتيرية النشطة أو تكون أكثر حساسية من غيرها للتأثير بالمواد الكيماوية السامة .

ثانيا : طور النمو اللوغاريتمي : Log phase

سبق أن ذكرنا أن الوقت الجيلي يكون ثابتاً خلال الصور اللوغاريتمي من النمو . وطول الوقت الجيلي للنوع البكتيري يتحدد عادة نتيجة لتفاعل العوامل الوراثية والظروف البيئية السائدة . فمثلا وجد أن الوقت الجيلي للبكتيريا *E.coli* هو عشرون دقيقة في الظروف البيئية المناسبة لنمو خلاياها في حين أن البكتيريا التابعة لجنس *Mycobacterium* يصل وقتها الجيلي إلى عدة ساعات في الظروف المناسبة .

ويعزى إختلاف طول فترة الوقت الجيلي للبكتيريات المختلفة إلى تفاوت قدراتها التخيلية للبروتوبلازم لا إلى معدل أو سرعة الانقسام حيث لوحظ أن الزيادة في محتويات الخلايا من النيتروجين تكون متلازمة مع الزيادة في عدد الخلايا خلال الطور اللوغاريتمي . وقد لوحظ أن درجة الحرارة أثناء فترة الحضانة تؤثر إلى حد كبير على معدل النمو أثناء هذا الطور . وحيث أن عمليات

النمو تعتبر عمليات كيميائية فإننا نتوقع إذن مضاعفة النمو كلما إرتفعت درجة حرارة الزرع بمقدار عشر درجات مئوية . وقد وجد أن هذا صحيح في حدود معينة من الحرارة تتراوح بين ٢٠ - ٤٠°م . ففي حدود هذا المجال نجد أن البروتين البكتيري يتأثر قليلاً أو بدرجة غير ملحوظة ولكن إذا إرتفعت درجة الحرارة عن ٤٠°م فإنه يحدث تثبيط حراري للبروتين الإنزيمي بالخلية البكتيرية مما يقلل معدل النمو .

ودرجة الحرارة المثالية للنمو والتي عندها يكون الوقت الجيلي أقصر ما يمكن هي عبارة محصلة بين التأثير المنشط للتفاعلات الأنزيمية الخلوية نتيجة لإرتفاع درجة الحرارة وبين التأثير الضار للبروتين الأنزيمي ، ودرجة الحرارة المثالية لمعظم البكتيريا الميزوفيلية تقع بين درجة ٢٧ - ٤٢°م . ويمكن الحصول على محصول وافر من خلايا البكتيريا إذا إحتفظ بالمزارع على درجة من الحرارة تقل بعدة درجات من درجة حرارتها المثالية للنمو حيث يمكن بذلك تقليل التأثير الضار للحرارة على البروتين الأنزيمي لهذه الخلايا .

والبكتيريا المحبة للحرارة المرتفعة thermophilic تتراوح درجة حرارتها المثالية للنمو بين ٥٥° - ٦٠°م فكيف إذن يتحمل البروتين الأنزيمي لهذه الخلايا مثل هذه الدرجات المرتفعة من الحرارة وكيف إذن يستمر النمو ؟ فقد وجد حديثاً أن البروتين الأنزيمي لهذا النوع من البكتيريا لا يختلف عن مثيله في البكتيريا الميزوفيلية والحيوانات ذات الدم الحار في قدرته على العمل تحت هذه الدرجات المرتفعة من الحرارة .

وعلاوة على ما تقدم فإن مكونات البيئة الغذائية يمكنها أيضاً أن تتحكم في طول فترة الوقت الجيلي (سوف يناقش هذا بشيء من التفصيل في الفصل الخاص بتغذية البكتيريا) . فمثلاً إذا لم تتمكن الخلايا البكتيرية من تجهيز مادة غذائية معينة فيشترط إذن اضافتها إلى البيئة وتعرف هذه المواد المضافة بإسم المواد الغذائية الضرورية essential nutrients ، وبعض المواد يمكن

للخلايا تجهيزها بسرعة والبعض الآخر يجهز ببطء ، كما أن من المواد ما لا يمكن للخلايا تجهيزها على الإطلاق ، من هنا يمكننا أن نتفهم مدى تأثير وجود أو غياب مثل هذه المواد على طول فترة الوقت الجيلي . وهناك بعض المواد تعتبر منشطة للنمو فقط بمعنى أنها ليست من المواد الضرورية essential ولكن وجودها بالبيئة يؤدي إلى تقصير فترة الوقت الجيلي . هذا وبمجرد وجود المواد الغذائية بالبيئة لا يؤثر على معدل النمو وطول الوقت الجيلي فقط ، بل أن تركيز هذه المواد بالبيئة له أيضاً تأثير واضح على النمو ومعدلاته . لذلك فإنه يمكن إطالة فترة الوقت الجيلي في مزرعة بكتيرية بتغيير بيئتها الغذائية أو بتقليل تركيز أحد مكوناتها .

إذا كان تركيز مكونات البيئة الغذائية محدوداً فإن المحصول الكلي للنمو البكتيري يكون متلازماً مع هذا التركيز فالمزرعة تنمو فترة من الزمن ثم تتوقف عن الانقسام نظراً لإستهلاك بعض أو كل محتويات البيئة من الغذاء . أما إذا أضيف المزيد من المواد الغذائية إلى هذه المزرعة فإنها تستعيد نشاطها ويبدأ الانقسام الخلوي من جديد . ولكن عند الوصول إلى حد معين يتوقف النمو كلية حتى ولو توافرت المواد الغذائية بالبيئة حيث أن النمو لا يمكنه أن يستمر إلى ما لا نهاية .

### ثالثاً — الطور الثابت : Stationary phase

هناك عدة أسباب تفسر السبب في توقف المزرعة البكتيرية عن النمو عندما تصل إلى حد معين ، منها : نفاد المواد الغذائية من البيئة أو زيادة تركيز المواد الأيضية الناتجة عن النشاط الخلوي حيث أن هذه المواد قد تؤدي إلى خفض درجة pH البيئة إلى حد يمنع التكاثر أو أن تكون هذه المواد ذاتها سامة للخلايا النشطة . وتهوية المزرعة تعمل على أكسدة الأحماض العضوية أو المواد السامة وعدم تكديسها ، الأمر الذي يطيل من فترة الطور اللوغاريتمي أو يؤجل حلول الطور الثابت من النمو . وحتى تحت الظروف القياسية من التهوية والتغذية



فإن معدل التكاثر يبدأ في التناقص حتى يتوازن مع معدل موت الخلايا. ويتوقف طول فترة هذا الطور على درجة حساسية الخلايا البكتيرية للظروف السائدة بالبيئة حيث يظل عدد الخلايا الحية المنقسمة ثابتاً بها ، فكلما زادت حساسية الخلايا وكلما كانت الظروف غير ملائمة كلما قصرت فترة الطور الثابت من النمو .

رابعاً - طور تناقص النمو أو طور الموت : The phase of decline or death

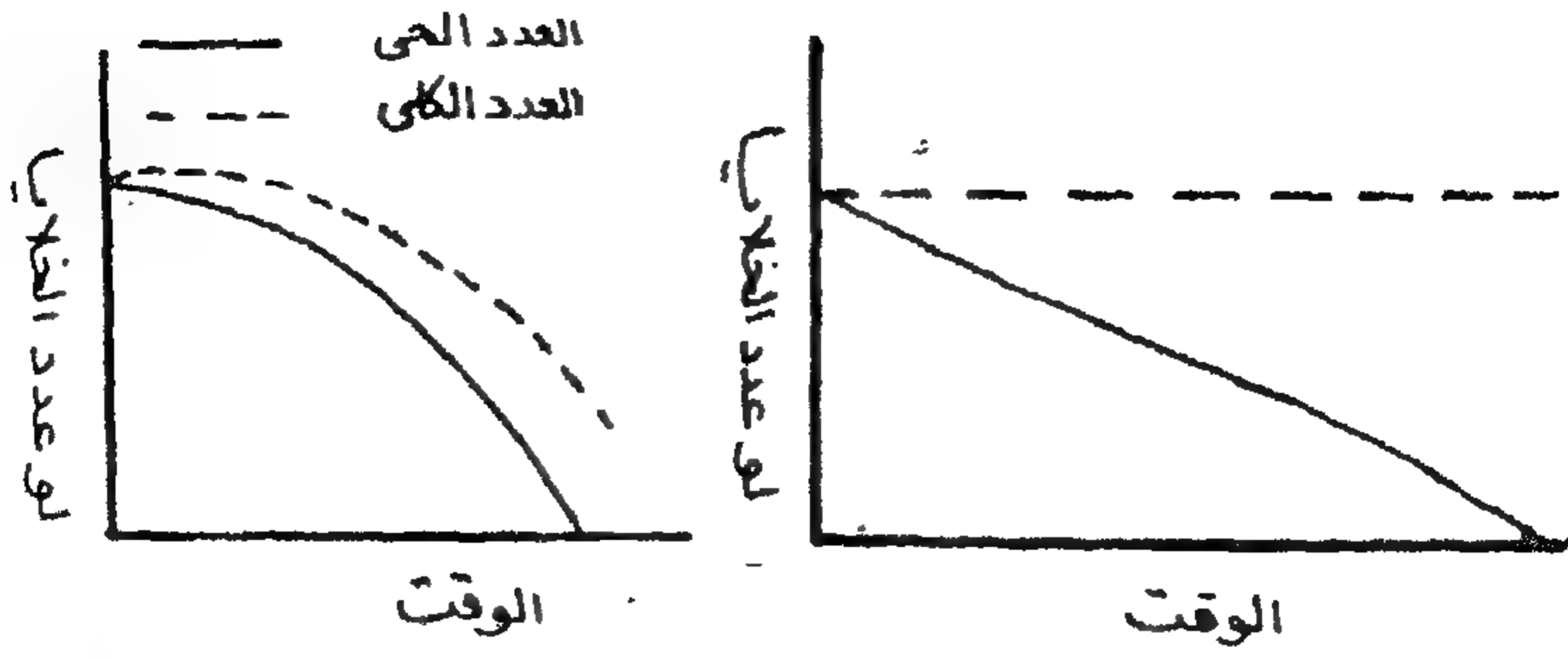
يعقب الطور الثابت حيث يبدو أن معدل موت الخلايا البكتيرية يزيد عن معدل التكاثر وتكوين خلايا جديدة . ويرجع ذلك إلى عدة أسباب تختلف باختلاف النوع البكتيري . والتحول المفاجيء من الطور الثابت إلى هذا الطور يتضمن معدلاً لوغاريتمياً لموت الخلايا وهو عكس المعدل اللوغاريتمى للنمو في الطور اللوغاريتمى . وقد يستمر ثبات معدل الموت لعدة أيام أو أن تموت كل الخلايا خلال هذه الفترة تبعاً لنوع البكتيريا . فبينما نجد أن كل الخلايا لبعض الأنواع الكروية السالبة لصبغة جرام تموت خلال فترة ٧٢ ساعة أو أقل نجد أن بعض الخلايا في مزارع البكتيريات الأخرى تظل حية لفترة تراوح بين شهرين إلى عدة سنوات .

وفي حالة بعض مجاميع البكتيريا فإن موت الخلية غالباً لا يصاحبه تحلل للخلية وبذلك فإن الكتلة الخلوية تظل ثابتة أو تظهر قليلاً من التدهور خلال هذه المرحلة بالرغم من موت عدد كبير من أفراد المجموع .

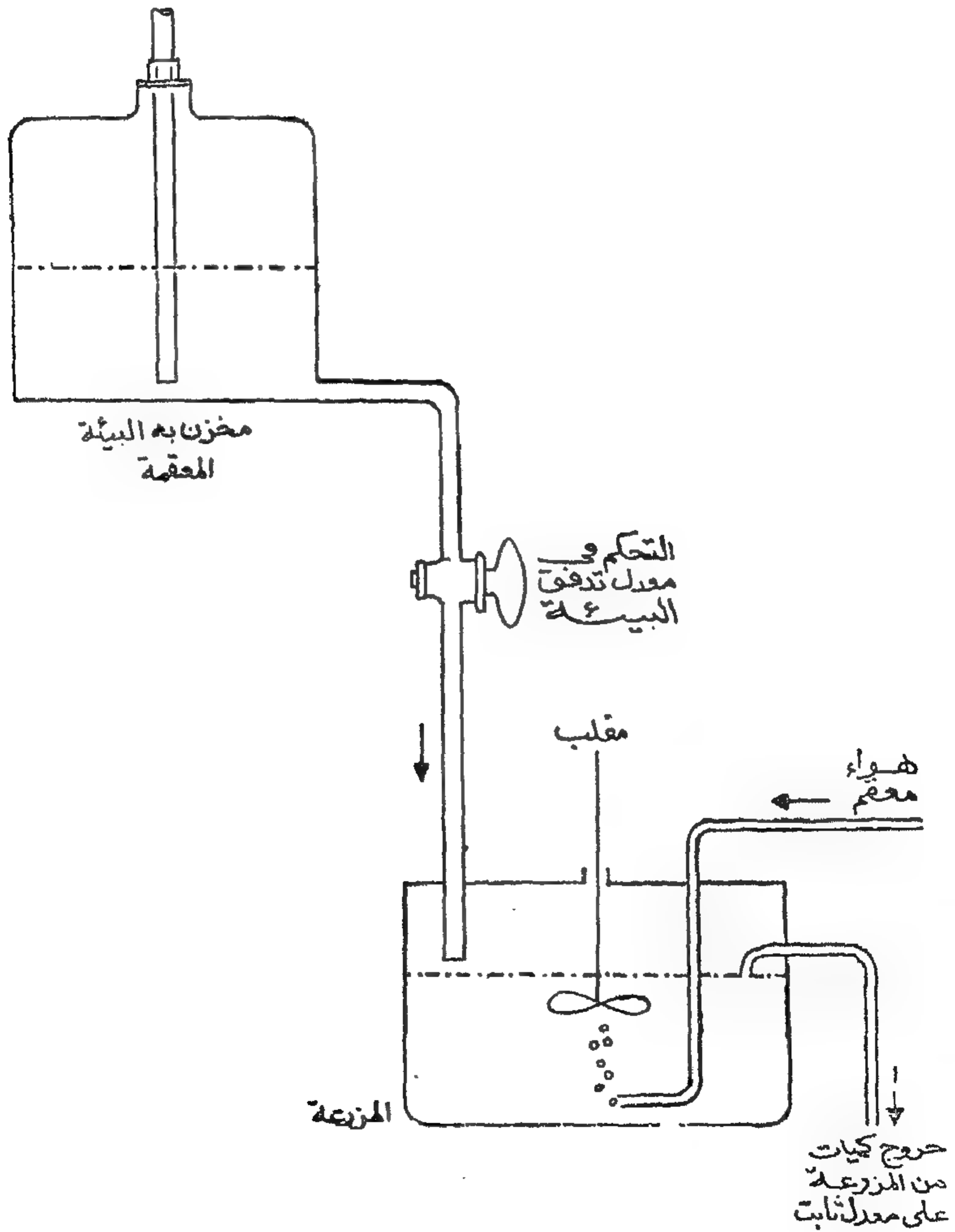
وقد يتبع الموت تحلل للخلايا وفي هذه الحالة فإن الكتلة تتدهور مسرع تدهور عدد الخلايا الحية كما يظهر في الرسم البياني بشكل ٦٥ .

المزرعة المستمرة : Continuous culture

المزرعة المستمرة هي المزرعة التي يحتفظ بها وهي في المرحلة النشطة من النمو (الطور اللوغاريتمى) وذلك بتلاني جميع الظروف التي تؤدي إلى دخول المزرعة في الطور الثابت وعادة يتم هذا الإجراء باستمرار إزالة لجزء مسن



شكل ٦٥ : العلاقة بين عدد الخلايا الحية وعدد الخلايا الكلي في مزرعتين في حالة طور الموت : ( الى اليمين ) موت بدون تحلل الخلايا ذاتيا ( . الى اليسار ) موت يصحبه تحلل ذاتي سريع



شكل ٦٦ : جهاز الـ Chemostat .

المزرعة وإضافة كمية مماثلة من البيئة الطازجة بدلا منها . كما تزود المزرعة بوسيلة فعالة للتهوية وذلك للعمل على أكسدة المواد السامة أو الحمضية التي قد تتكون بالمزرعة أثناء النمو وبذلك تستمر المزرعة في النمو اللوغاريتمي ولا تدخل مرحلة الطور الثابت أو طور الموت . ويستعمل لذلك الغرض عدة تصميمات منها الـ Chemostat أو الـ Bactogen أو الـ turbidostat . والتي قام بتصميمها كلا من نوفيك وزيلارد Novick and Czilard (١٩٥٠) والجهاز وعاء (شكل ٦٦) يحتوي على معلق من البكتيريا يضاف إليه البيئة الطازجة تدريجيا على معدل بطيء ويخرج من الوعاء كمية من المزرعة على نفس المعدل بطريقة تمنع التلوث . والنظرية الأساسية وراء هذا الجهاز تتلخص في إنه يجب أن تتلاءم سرعة إضافة البيئة الطازجة مع معدل نمو الخلايا بمعنى أن معدل النمو يتوازن غالباً مع معدل فقد الخلايا نتيجة لإضافة البيئة الطازجة . أما إذا زاد معدل النمو عن سرعة إضافة البيئة الطازجة فإن الخلايا ستستهلك الغذاء وربما أحد مكونات البيئة بدرجة أسرع ويتوقف النمو .

ويلاحظ أن الجهاز إذا كان مصمما على أن معدل التخفيف dilution rate

$$\left( \frac{\text{معدل دخول المواد الغذائية (لتر/ساعة)}}{\text{حجم وعاء المزرعة باللتر}} \right)$$

سوف يحفظ المزرعة على درجة ثابتة من التعكير (ناتج نمو الخلايا) يسمى الجهاز turbidostat نظراً لثبات درجة العكارة في المزرعة . وأما ما نسميه بالـ Chemostat فهي تطلق على الجهاز عندما تكون أحد مكونات البيئة أو أحد نواتج التفاعل محدد لنمو المزرعة وأن إضافته أو إزالته يعمل على حفظ النمو على معدل ثابت .

#### المجاميع المختلطة :

إن المعلومات السابق بيانها في هذا الفصل تم الحصول عليها من الدراسات التي أجريت على مزارع نقية ، ويبدو أنه يمكننا أن نتحكم في الأطوار المختلفة

لأنمو البكتيريا بتغيير الظروف المزرعية من غذاء وحرارة وتهوية . وقد يبدو لنا أن نفس العوامل قد تؤثر على النمو الطبيعي لمثل هذه البكتيريا بعيداً عن المعمل . ولكن تحت الظروف الطبيعية للبكتيريا ، تتأثر بعامل آخر قد تغير من دورة نموها ألا وهو تعايشها مع غيرها من الكائنات في مزارع مختلطة وكما سبق أن بينا أن البكتيريا لا تتواجد في الطبيعة في مزارع نقية إلا نادراً كما يحدث في بعض حالات التطفل أو تبادل المنفعة وأنه في معظم الحالات تعيش البكتيريا في مجتمعات مختلطة مع عديد من الكائنات الحية الأخرى التي تختلف عن بعضها في الإحتياجات الغذائية وفيما تنتجه من مواد أيضية مختلفة . وأن هذا التعايش المختلط ليس فقط نتيجة لتفاعل الظروف البيئية مع كل كائن في المجموع بل أيضاً نتيجة للعوامل البيولوجية المختلفة أعني وجود الكائنات الأخرى وتأثير كل منها على الآخر .

وتأثير الاختلافات في الظروف البيئية على المجاميع المختلطة قد تم دراسته بالتفصيل على محتويات التربة من الكائنات الحية الدقيقة حيث أن التغيرات في قيمة pH أو درجة حرارة التربة أو فيما تحتويه من النيتروجين ينعكس في ظهور تغير واضح في أنواع الكائنات الحية الدقيقة التي تسود بالتربة تحت مختلف الظروف . فإذا إستعملنا كمية من التربة لتلقيح بيئات مختلفة التركيب فإن الكائنات التي تنمو وتسود في كل بيئة هي تلك التي تنمو بدرجة أكبر من غيرها من الكائنات على مثل هذه البيئة فمثلاً إذا كانت إحدى البيئات محتوية على السليلوز كمصدر وحيد للكربون ، فإن الكائنات التي تسود في مثل هذه البيئة ، هي تلك التي لها القدرة على تحليل السليلوز ويليها في النمو تلك الكائنات التي تعيش على نواتج تحليل السليلوز أعني السلوبيوز cellobiose أو الجلوكوز وهذه تتوفر بالبيئة عقب نمو الأنواع المحللة للسليلوز .

وبالمثل فإنه يمكن فصل المجاميع البكتيرية المختلطة والمكونة من بكتيرياات كفاءات تحليلية مختلفة باتباع طريقة المزارع المقواه «Enrichment culture» method: بهذه الطريقة يمكن عزل الكائنات المختلفة كالتى لها القدرة على تثبيت



الآزوت الجوى ، أو ذات قدرة على تحليل البجنين أو على إستعمال كـ  $CO_2$  كمصدر وحيد للكربون من المجاميع المختلطة . وقد يكون تعداد كل منها فى عينة التربة غير محدود إلا أنه يمكن لنا عن طريق التحكم فى الظروف البيئية بالمعمل وبإتباع طرق المزارع المقواه أن نطبق نظرية البقاء للأصلح تبعاً للظروف السائدة بالبيئة .

ومما هو جدير بالذكر أن نتائج دراسة مجاميع الكائنات الحية الأخرى تتشابه كثيراً مع تلك الخاصة بالبكتيريا . فإن الملاحظات المعروفة عن النمو-و المختلط لذبابة الفاكهة مع غيرها من الكائنات الحية قد أسفرت عن إيجاد منحنى موحد للنمو الجماعى لهذه الكائنات بشرط توافر الظروف البيئية المناسبة . وأن هذا المنحنى لا يختلف فى تفاصيله كثيراً عن منحنى النمو البكتيرى (شكل ٥٧) . وتبعاً لهذه النظرية فإن المجموع يصل إلى ذروته نتيجة لزيادة تعداد أفراده (عدد/وحدة مكانية) وأن الجزء الأخير من دورة النمو يكون مصحوباً بتناقص ملحوظ فى معدل النمو .

وهناك خلاف بين علماء الاجتماع وعلماء البيئة فى إمكانية تطبيق هذا القانون أعنى المنحنى الطبيعى للنمو على الإنسان والنبات والحيوان ، حيث أن الحالة الثقافية والاقتصادية وتوفر الغذاء والجو المناسب يعتبر من الظروف الهامة فى زيادة معدل نمو المجتمعات الإنسانية مما قد يؤثر على شكل طبيعة المنحنى . وقد يبدو الأمر مبالغاً فيه إذا ما قارنا تأثير الحروب على المجتمعات الإنسانية بتأثير المضادات الحيوية مثلاً على المجاميع البكتيرية .

## المراجع

Caspersson, T. 1947. The relation between nucleic acids and protein synthesis. Symposium of Soc. Exp. Biol., I. 127.

- Gunsalus, I.C. 1951. «Growth of bacteria» in C.H. Werkman and P.W. Wilson (eds) «Bacterial Physiology». Academic Press, New York, 1951.
- Hinshelwood, C.N. 1964. The chemical kinetics of bacterial cell. The Clarendon Press, Oxford. 284 pages.
- Lamanna, C., and M.F. Mallette, 1953. Basic bacteriology. The Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Levy, J., J.J.R. Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and sons, New York.
- Mitcel, P. and J. Moyle. 1951. Relations between growth, surface properties, and nucleic acid production in normal and penicillin-treated *Micrococcus pyogenes*. J. Gen. Microb., 5 : 421.
- Monod, J. 1949. The growth of bacterial cultures. Ann. Rev. Microbiol. 3:371
- Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York
- Oginsky, E.L. and W.W. Umbreit. 1954. An introduction to bacterial physiology. W.H. Freeman and Co. San Francisco. pages 49-66.
- Pelezar, M.J. and R.D. Reid. 1958. Microbiology. I Mc. Graw - Hill Book Co. N. Y., Toronto, London pages 64 - 75.
- Porter, J.R. 1949. Bacterial chemistry and physiology. John Wiely and sons, New York pages 93 - 143.
- Rahn, O. 1932. Physiology of bacteria. P. Blakistton sons and Co., Philadelphia. pages 162 - 269.

## الفصل الثاني

### الاحتياجات الغذائية Nutritional Requirements

تحتوى الخلية البكتيرية على ٨٠ - ٩٠٪ من وزنها الكلى من الماء وهو يعتبر من أهم محتويات الخلية من الناحية الكمية والإيدروجين والأوكسوجين والكربون والنيتروجين والفوسفور والكبريت تمثل حوالى ٩٥٪ من الوزن الجاف الخلوى كما توجد عناصر أخرى مثل البوتاسيوم والمغنسيوم والكالسيوم والحديد والمنجنيز والكوبالت والنحاس والموليبدينم والزنك (جدول ٥) ونسب قليلة .

يمكن إمداد الخلية البكتيرية بإحتياجاتها من العناصر الغذائية المعدنية وذلك بإضافتها على صورة أملاح يمكن للخلية أن تحصل منها على الكاتيونات المنفردة وتختلف العناصر المعدنية فى مدى إحتياج البكتيرياات المختلفة إليها فالبوتاسيوم والمغنسيوم والكالسيوم والحديد تحتاجها الخلايا بكميات عالية نسبيا لذا فكان من الواجب أن توفر دائماً فى صورة أملاح فى بيئة الزرع أما إحتياجات البكتيرياات بوجه عام من المنجنيز والكوبالت والموليبدينم والزنك فهى إحتياجات صغيرة جداً بدرجة أنه توجد صعوبة لتحديد مدى ضرورة إضافتها إلى البيئة حيث أنها توجد مكونة للمكونات غير العضوية الأساسية فى البيئة بكميات مناسبة للنمو وعادة يشار إلى مثل هذه العناصر بأنها عناصر غذائية صغرى micronutrients أو trace elements . وهناك عنصر يمكن إعتباره من العناصر غير المعدنية ألا وهو الفوسفور يمكن أيضاً أن يضاف إلى بيئة النمو كمادة غذائية فى صورة غير عضوية كاملاح الفوسفات . وعنصر الصوديوم فلم يمكن إثبات إحتياجه لكثير من الكائنات الحية الدقيقة إلا أن بعض البكتيرياات البحرية وبعض البكتيرياات الممثلة للضوء تحتاجه بكميات كبيرة نسبيا . وفى هذه المجاميع البكتيرية التى تحتاجه لا يمكن أن يحل محل الصوديوم أى كاتيونات أحادية التكافؤ أخرى .

جدول رقم ٤ : المحتوى العنصرى التقريبى لخلايا البكتيريا

*Escherichia coli*

العنصر	النسبة المئوية للوزن الجاف
كربون	٥٠
أكسجين	٢٠
نيتروجين	١٤
هيدروجين	٨
فوسفور	٣
كبريت	١
بوتاسيوم	١
صوديوم	١
كالسيوم	٠,٥
مغنسيوم	٠,٥
كلور	٠,٥
حديد	٠,٢
باقى العناصر	٠,٣

جدول ٥ : الوظائف الفسيولوجية العامة للعناصر الأساسية

العنصر	الوظائف الفسيولوجية
الإيدروجين	أحد مكونات الماء الخلوى — المواد الخلووية العضوية .
الأكسجين	أحد مكونات الماء الخلوى — المواد الخلووية العضوية .
الكربون	المكون الرئيسى فى المواد الخلووية العضوية .
النيتروجين	يدخل فى تكوين البروتين والأحماض النووية ، ومرافقات الإنزيمات .
الكبريت	مكون للبروتين (مثل الأحماض الأمينية سستين وميثيونين) — ومرافقات الإنزيمات مثل CoA و cocarboxylase
الفوسفور	مكون للأحماض النووية والفوسفوليبيدات ، ومرافقات الإنزيمات .
البوتاسيوم	أحد الكاتيونات الأساسية فى الخلايا ويعتبر cofactor لبعض مرافقات الإنزيمات .
المغنسيوم	كاتيون خلوى هام ويعتبر cofactor لكثير من التفاعلات الإنزيمية التى تشتمل على ATP — له وظيفة للمساعدة فى ربط مواد التفاعل بالإنزيمات — أحد مكونات الكلوروفيل البكتيرى ، cofactor لبعض الإنزيمات — فى بعض الأحيان يحل مكان المغنسيوم .
الكالسيوم	كاتيون خلوى هام — cofactor لبعض الإنزيمات مثل الإنزيمات المحللة للبروتين .



## تابع جدول هـ

الحديد	من مكونات السيتوكرومات — Cofactor عامل مصاحب لبعض إنزيمات التنفس .
كوبالت	أحد مكونات فيتامين ب ١٢ والمرافق للإنزيم المشتق منه .
النحاس والزنك والموليبدينم	من مكونات بعض الإنزيمات والأخير له دور في عملية تثبيت الآزوت الجوى .

أما عن إحتياجات البكتيريا من الكربون والنيتروجين والكبريت والأوكسوجين فلا يمكن وصفها بسهولة نظراً لأن البكتيريات تختلف في الصورة الكيماوية المتخصصة التي يجب أن توفر بها هذه العناصر كمواد غذائية

فمصدر الكربون قد يكون عبارة عن ثاني أكسيد الكربون (ك ١٢) أو كربون عضوى . والبكتيريات التي تحتاج إلى الكربون العضوى قد تختلف في إحتياجاتها للمواد العضوية الكربونية . فمثلاً بعض أنواع الجنس *Pseudomonas* تستطيع إستعمال واحد من ٩٠ مركب كربونى عضوى مختلف كمصدر وحيد للكربون والطاقة في حين أن البكتيريا التي تؤكسد الميثان تستعمل فقط أحد مصدرين من المواد الكربونية العضوية الميثان أو كحول الميثيل . وبعض البكتيريات التي تحلل السيلولوز تستعمل السيلولوز فقط كمصدر وحيد للكربون .

أما عن مصدر النيتروجين فقد يوفر على صورة غير عضوية مثل غاز النيتروجين (ن ٢) أو الأمونيا أو أملاحها أو على صورة أملاح نترات أو نيتريت أو أن يوفر على صورة نيتروجين عضوى كالأحماض الأمينية أو الببتيدات أو البروتينات . هذا وتحصل البكتيريات على إحتياجاتها من الكبريت من يده ٢ كـ

جدول ٦ : علاقة بعض الفيتامينات القابلة للذوبان في الماء بالمرافقات الإنزيمية :

الفيتامين	المرافق الإنزيمى	التفاعل الإنزيمى المشتمل على المرافق الإنزيمى .
حمض النيكوتينيك (نياسين)	NAD , NADP	تفاعلات إزالة الإيدروجين .
ريبوفلافين (فيتامين ب ٢)	FAD, FMN	بعض تفاعلات إزالة الإيدروجين - نقل الإلكترونات .
الثيامين (فيتامين ب ١)	Thiamin pyrophosphate (cocar boxylase)	تفاعلات إزالة الكربوكسيل وبعض التفاعلات التى تشتمل على نقل مجموعة .
بيريدوكسين (فيتامين ب ٦)	Pyridoxal phosphate	ميتابوليزم الأحماض الأمينية Transamination Deamination Decarboxylation
حمض البانتوثينيك	Coenzyme A	أكسدة الـ Keto - acids ميتابوليزم الأحماض الدهنية .
حمض الفوليك	Tetrahydrofolic acid	نقل وحدات من ذرة كربون واحدة .
Lipoic acid	Lipoic acid	نقل الأيدروجين و acyl transfer
بيوتين	Prosthetic group of biotin enzymes	تثبيت ك١٢ - نقل الكربوكسيل
Cobamide (فيتامين ب ١٢)	Cobamide coenzymes	تفاعلات إعادة الترتيب الجزيئى

أو الكبريتات أو الكبريتيدات أو من المركبات العضوية التي تحتوي على مجاميع السلفهيدريل (مثل الحمض الأميني سيستين) .

أما الأكسجين فيعتبر المكون الأساسي في الماء وفي المركبات العضوية فإنه يضاف بكميات كبيرة في المادة الغذائية الرئيسية وهي الماء إلا أن كثير من البكتيريا فتحتاج إليه كأكسجين جزئي (١٢) . وهذه الكائنات الهوائية التنفس تستعمل الأكسجين كعامل أكسدة نهائي أو مستقبل نهائي للإيدروجين أو الإلكترونات للحصول على الطاقة وتسمى هذه الكائنات هوائية إجباراً *Obligately aerobic* . وتوجد كائنات دقيقة أخرى تحصل على الطاقة اللازمة عن طريق التفاعلات التي تتضمن عمليات أكسدة وإختزال دون أن يكون للأكسجين الجزئي دور فيها بل ويعتبر الأكسجين في كثير من الأحيان مادة سامة حيث أن وجوده يقتل الخلايا أو يشبط نموها وتعرف هذه الكائنات بأنها غير هوائية إجباراً *Obligately anaerobic* . وهناك مجموعة من الكائنات تقع بين الكائنات الهوائية وغير الهوائية إجباراً وهذه تعرف بأنها غير هوائية إختياراً *Facultative anaerobic* ، وهذه تنمو في وجود أو في غياب الأكسجين الجزئي . وبعض الكائنات تستطيع أن تنمو بدرجة أفضل عند وجود ضغوط منخفضة من الأكسجين (أقل من الأكسجين الموجود في الجو) ويطلق عليها *microaerophilic* .

#### عوامل النمو Growth factors

هناك مواد عضوية معقدة تحتاج إليها بعض البكتيريا غير القادرة على تخليقها ويجب إضافتها إلى بيئة النمو وتعرف هذه المواد العضوية بإسم عوامل النمو *growth factors* فهي إذن مواد عضوية يحتاجها الكائن لتساعد في العمليات الإنزيمية أو لتدخل كأحد المواد المبدئية *precursor* لتخليق مادة عضوية خلوية هامة لا يستطيع الكائن أن يخلقها من المصادر الكربونية البسيطة . وعوامل النمو العضوية يقصد بها عادة المواد التي تعرف بالفيتامينات *vitamins* (جدول ٦) وهذه غالباً تدخل في تركيب العديد من المرافقات الإنزيمية

أو تعمل كما هي كمرافقات إنزيمية لعديد من الإنزيمات . ولكن في بعض الأحيان يتحدد النمو نتيجة لغياب واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية أو واحد أو أكثر من القواعد البيورينية أو البايريميدينية purines and pyrimidines وفي هذه الحالة يمكن اعتبار هذه المواد الأخيرة تجاوزا عوامل نمو . وكما سبق أن ذكرنا أن عدم قدرة الكائن على تخليق أو بناء أى من هذه المواد اللازمة لحياة الخلية وأن ذلك يستدعى إضافته إلى البيئة كعامل نمو .

### تقسيم البكتيريات من الوجهة الغذائية

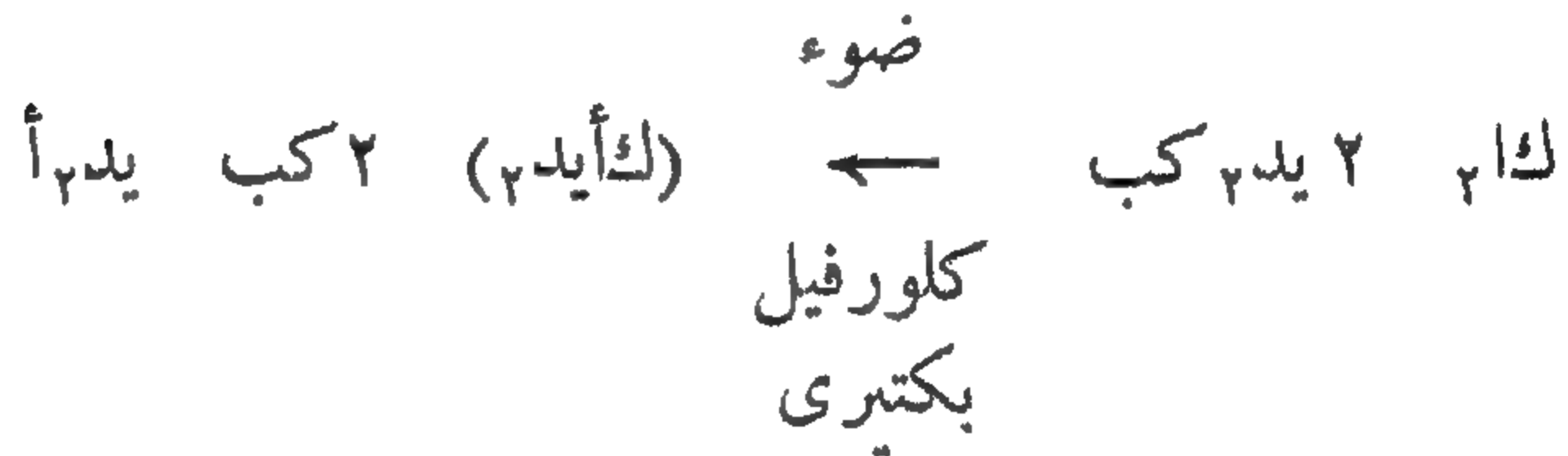
عند القيام بتصنيف وتجميع البكتيريات في مجاميع غذائية يجب أن نأخذ في إعتبارنا طبيعة مصدر الطاقة التي تحصل عليها المجموعة وكذلك طبيعة مصدر الكربون الأساسى بغض النظر عن مدى الإحتياج أو عدمه لعوامل النمو المتخصصة .

فالبكتيريات التي تستعمل الضوء كمصدر للطاقة تضم إلى مجموعة البكتيريات الممثلة للضوء Phototrophic (photosynthetic) أما البكتيريات التي تستعمل مادة كيميائية كمصدر للطاقة فتضم إلى المجموعة التي تعرف بأسم Chemotrophic (Chemosynthetic) . أما من حيث مصدر الكربون فإن الكائنات التي تستطيع إستعمال كأي كمصدر وحيد أو أساسى للكربون اللازم لحياتها فتضم إلى المجموعة التي تعرف بإسم ذاتية التغذية Autotrophic أما التي لا تستطيع إستعمال كأي كمصدر وحيد أو مصدر أساسى للكربون ويلزم لها كربون عضوى فتضم إلى المجموعة المعروفة بإسم غير ذاتية Heterotrophic ونتيجة للإعتبارين السابقين فقد أمكن تقسيم البكتيريات من الناحية الغذائية إلى المجاميع الأربع التالية والمبينة بالجدول رقم ٧ :-

١ - بكتيريا ممثلة للضوء ذاتية التغذية Photoautotrophic bacteria

تعتمد على الضوء كمصدر للطاقة وتستعمل كأي كمصدر رئيسى للكربون

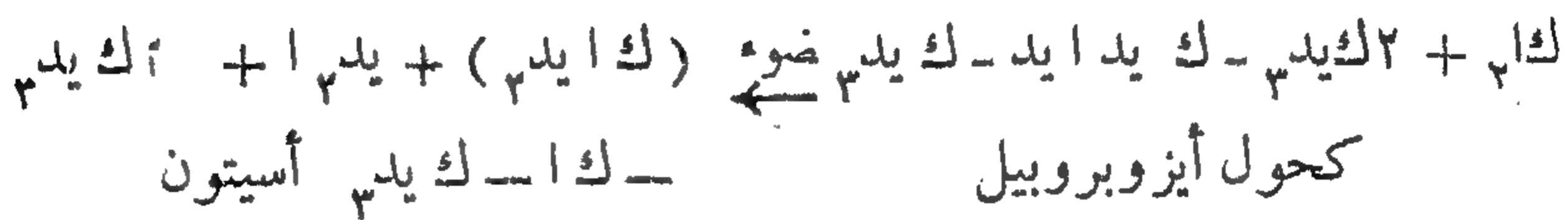
أو تستطيع إستعمال ك<sub>٢</sub> كمصدر وحيد للكربون . مثل بكتيريا الكبريت الخضراء Green sulfur bacteria والتي تنتمي للعائلة Chlorobiaceae . ويلاحظ أن بعض السلالات التي تنتمي لهذه العائلة تحتاج إلى فيتامين ب<sub>١٢</sub> . ويتم تكوين الكربوهيدرات من ك<sub>٢</sub> في وجود يد<sub>٢</sub> كب كمعطى - للأيدروجين والكبريت الناتج يترسب خارج الخلايا .



## ٢ - بكتيريا تمثلة للضوء غير ذاتية التغذية

Photoheterotrophic bacteria

تعتمد على الضوء كمصدر للطاقة وتستعمل مركبات كربون عضوية كمصدر رئيسي للكربون مثل البكتيريا القرمزية غير الكبريتية Purple nonsulfur bacteria والتي تنتمي للعائلة Rhodospirillaceae . ويلاحظ أن معطى الإيدروجين في هذه الحالة يكون عبارة عن مادة عضوية مثل الكحولات أو الأحماض الدهنية أي أنها تحتاج إلى كربون عضوي وتقوم في نفس الوقت بعملية التمثيل الضوئي .



## ٣ - بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وذاتية التغذية

Chemoautotrophic bacteria (Chemolithotrophs)

تحصل على الطاقة اللازمة لها بطريق كيماوى وتستطيع تثبيت ك<sub>٢</sub> وإستعماله



جدول (٧) : يوضح الجاميع الغذائية الرئيسية للبكتيريا

نوع التغذية	مصدر الطاقة	مصدر الكربون	مصدر النيتروجين (أقل الاحتياجات)	الاحتياج لمو امل النمو
١ - بكتيريا ممتثلة للضوء ذاتية التغذية Photoautotrophic bacteria	الضوء	ك٢١	الأمونيا	بعض السلالات تحتاج ب ١٢
٢ - بكتيريا ممتثلة للضوء وغير ذاتية التغذية Photoheterotrophic bacteria	الضوء	ك٢١ : وكربون عضوي	الأمونيا	معظم السلالات تحتاج إلى واحد أو أكثر من الفيتامينات
٣ - بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وذاتية التغذية Chemoautotrophic bacteria ( Chemolithotrophic )	أكسدة مادة كيماوية مثل الأمونيا	ك٢٢	الأمونيا	-
٤ - بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وغير ذاتية التغذية Chemoheterotrophic bacteria Azotobacter spp.	أكسدة السكريات وغرها من مركبات الكربون العضوية	كربون عضوي	ن٢	؟

٢٠	ن	كربون عضوي	»	»	»	
—	أمونيا أو نترات	»	»	»	»	Rhizobium spp
فيتامين أو أكثر	حمض أميني أو أكثر	»	»	»	»	E. coli (السلالة البرية)
نياسين (ب ٥)	أمونيا أو نترات	»	»	»	»	E. coli (طفرة معينة)
مجموعة من فيتامينات ب	أمونيا أو نترات بعض السلالات تحتاج حمض أميني واحد	»	»	»	»	Proteus vulgaris
مجموعة من فيتامينات ب	بعض أحماض أمينية وبعض مركبات نيتروجينية عضوية	»	»	»	»	Salmonella typhosa
مجموعة من فيتامينات ب وبيورينات وبريكيدينات	عديد من الأحماض الأمينية	»	»	»	»	Streptococcus pyogenes
						Lactobacillus arabinosus
						Treponema pallidum
						(السلالات الممرضة منها)

كمصدر أساسي للكربون . وأن إستعمال ك<sub>٢</sub> كمصدر أساسي للكربون في هذه المجموعة يصاحبه دائماً القدرة على أكسدة مواد غير عضوية مختزلة والحصول على الطاقة (مثل أكسدة نيد<sub>٢</sub> أو أكسدة ن<sub>٢</sub> أو أكسدة أيونات الحديدوز أو أكسدة بعض مركبات الكبريت المختزلة مثل يد<sub>٢</sub> كب أو كب أكسدة يد<sub>٢</sub>)

ومن أمثلة هذه البكتيريا أنواع جنسى *Nitrosomonas* التى تحصل على الطاقة اللازمة لها من أكسدة الأمونيا إلى نترت .



وهذه الطاقة تستعمل فى إختزال مصدر الكربون الأساسى لها وهو ك<sub>٢</sub> إلى مستوى الكربوهيدرات .

ومثال آخر هو البكتيريا *Thiobacillus thiooxidans* تؤكسد الكبريت للحصول على الطاقة اللازمة لإختزال ك<sub>٢</sub>



٤ — بكتيريا تقوم بالتمثيل الكيماوى وغير ذاتية التغذية

**Chemoheterotrophic bacteria (Chemoorganotrophs)**

تعتمد على مصدر طاقة كيماوى وتستعمل مركبات عضوية كمصدر أساسي للكربون . ويعمل مصدر الكربون العضوى كمصدر للطاقة والكربون . ومعظم البكتيريا تقع ضمن هذه المجموعة . (يلاحظ أن الحيوانات الراقية والبروتوزوا والفطريات تماثل هذه المجموعة من الوجهة الغذائية) .

ويختلف مصدر النيتروجين وكذلك الإحتياج للفيتامينات إختلافا كبيرا فى البكتيريا التابعة لهذه المجموعة . فمنها ما تستعمل الآزوت الجوى كمصدر

للنيتروجين مثل البكتيريا المثبتة للآزوت مثل *Rhizobium spp.* والـ *Azotobacter spp.* ( عندما توجد في معيشة تعاونية مع النبات ) . أو قد يكون مصدر نيتروجين في صورة أملاح مثل الأمونيا أو النترات ولا تحتاج في نفس الوقت إلى الفيتامينات كما في حالة السلالة البرية من *E. coli* و *Serratia marcescens* و *Aerobacter aerogenes* و *Pseudomonas aeruginosa* فمثل هذه الكائنات الأربعة الأخيرة تستطيع أن تخلق عوامل النمو والبروتين والدهون والأحماض النووية وغيرها من مكونات الخلية إذا نمت في بيئة تركيبية بسيطة تتكون من الجلو كوز كمصدر للطاقة والكربون وفوسفات الأمونيوم كمصدر للنيتروجين وبعض المكونات غير العضوية البسيطة.

٦٠ ملليجرام	(ن يدء) يدفواء
٤٠ ملليجرام	لـ كيد٧ فواء
١٠٠ ملليجرام	ص كل
١ ملليجرام	ح كبا ، ٧٠ يد٢
٥ ملليجرام	مغ كبا ، ٧٠ يد٢
٢ جرام	جلو كوز
إلى ١٠٠ مليلتر	ماء

وتوجد بكتريات تقع ضمن هذه المجموعة إلى حمض أميني واحد أو فيتامين واحد أو قد تحتاج لأكثر من ذلك . فمثلا معظم سلالات *Salmonella typhosa* ، تحتاج إلى الحمض الأميني تريبتوفان في حين أن *Proteus vulgaris* تحتاج إلى حمض النيكوتينيك . أما *Lactobacillus arabinosus* فتحتاج على الأقل إلى ٢٤ مادة منها أحماض أمينية وفيتامينات و بيورينات Purines و بيريميديات Pyrimidines .

ويلاحظ أنه يقع ضمن هذه المجموعة من البكتيريا أفراد يصعب تنميتها على البيئات الغذائية حتى ولو وفرت لها كثير من المواد الغذائية النقية إذ يلزم نموها وتكاثرها وجود أنسجة حية وتعرف هذه الكائنات بالطفيليات الإجبارية

#### التغذية المختلطة Mixotroph (Mixotrophic)

يستعمل إصطلاح Mixotroph للدلالة على أن البكتيريا الممثلة للضوء تكون قادرة على النمو إما في وجود أو في غياب الضوء أو يستعمل لإظهار أن الكائن قد يكون قادرا على استعمال مواد مختلفة عضوية أو غير عضوية يدمج كمصدر للطاقة أو كمصدر للكربون . ومن الأمثلة على ذلك أن بكتيريا الكبريت الخضراء (chlorobiaceae) فهي قادرة على التمثيل الضوئي وتكوين الكربوهيدرات من ك<sub>٢</sub> في وجود مادة كمعطية للإيدروجين وهي يدمج في هذه الحالة . إلا أنه في بعض الأحيان يمكن لبعض السلالات التابعة لهذه العائلة أن تمثل الضوء مع استعمال بعض المركبات العضوية البسيطة مثل الخلات في وجود كل من ك<sub>٢</sub> وكبريتيد الإيدروجين لذلك فهي تعتبر مختلطة التغذية . mixotrophic

وقد وجد أن ذلك صحيح أيضاً في حالة بكتيريا الكبريت القرمزية purple sulfur bacteria فإنها تستطيع استعمال ك<sub>٢</sub> كمصدر وحيد للكربون في وجود يدمج أو الكبريت . ولكن معظم السلالات تستطيع تمثيل ضوئياً Photoassimilate عديد من المركبات العضوية مثل الخلات أو البيروفات .

كما وجد أن بعض من سلالات الـ *Beggiatoa* تستطيع أن تعيش بطريقة ذاتية التغذية autotrophically تحت ظروف معينة إلا أن كل سلالاتها تنمو أيضاً في وجود تركيزات منخفضة من الخلات وعلى ذلك فلا تعتبر ذاتية التغذية إجباراً Obligate chemolithotrophs ولكن مختلطة التغذية mixotrophic .



ومن أمثلة البكتيريا المختلطة التغذية أيضا تلك البكتيريا التي يمكنها أن تمثل الهيدروجين *Hydrogenomonas facilis* (وتسمى الآن *Pseudomonas facilis*) فهي تؤكسد الهيدروجين بواسطة الأوكسجين وتنطلق الطاقة التي تستعمل في إختزال كاشم إلى كربوهيدرات وذلك عندما تنمو بطريقة ذاتية التغذية. إلا أن هذه البكتيريا يمكنها أن تعيش أيضا بطريقة غير ذاتية حيث يمكنها أن تستغني عن عملية تمثيل أو أكسدة الهيدروجين للحصول على طاقتها إذا زرعت في بيئة عادية بها سكريات كمصدر للطاقة والكربون .

### التداخل الغذائي بين الكائنات

**Nutritional interactions among organisms (syn trophy)**

عندما يوضع كائنين أو أكثر في بيئة معا فإن المجموع الكمي والنوعي للنشاط الأيضي قد يختلف عن نشاط كل كائن منهما عندما ينمو بمفرده في نفس البيئة من الناحية الكمية والوصفية .

وقد ثبت أن هذه الظواهر تنشأ من التداخل الأيضي أو الغذائي بين الكائنين ويطلق على هذه الظواهر مجتمعة إسم syntrophic أو synergistic effects .

ولإيضاح ما تقدم نذكر أن الكائنات التي تخلق موادها الحلوية من مواد عضوية بسيطة في البيئة تستطيع غالبا أن تفرز كميات بسيطة من الفيتامينات أو الأحماض الأمينية والتي تعتبر ضرورية essential لنمو غيرها من الكائنات الدقيقة . وهذا يسمح بتكشاف الطرز التي تحتاج إلى هذه المواد .

أما ظاهرة cross-feeding فتعتبر علاقة غذائية أكثر تعقيدا بين الكائنات وفيها يعتمد كل كائن على الآخر في بعض العناصر الغذائية الضرورية في ظروف نقص التغذية لكل منهم بمفرده. فمثلا بعض الكائنات الدقيقة لا تستطيع تخليق قاعدة بيريميدين Pyrimidine في جزيء الثيامين

Thymin في حين أن كائنات أخرى لا تستطيع تخليق الثيازول thiazole في جزيء الثيامين . ولكن في بعض الظروف فإن مثل هذه الكائنات تنمو معا في البيئة التي لا تحتوي على أى من بيريميدين أو الثيازول حيث أن كل منهم يمد الآخر بالمادة الغذائية المطلوبة له .

### التغذية والتطور :

تختلف أفراد البكتيريا كثيرا في احتياجاتها الغذائية . فالبرغم من سعة مجال احتياجات هذه البكتيريا من مصادر النشاط energy supply ومصادر الكربون والنيتروجين إلا أنها جميعا تستعمل طرقا موحدة في استغلال الطاقة وفي بناء وحداتها البروتوبلازمية . ففي أحد أطراف مجال الاحتياجات الغذائية (جدول رقم ٧) نجد أن بعض البكتيريا يمكن أن تنمو في بيئات بسيطة جداً مكونة من أملاح الامنيوم في وجود غاز ثاني أكسيد الكربون ، وعن طريق أكسدة أو اختزال هذه المواد البسيطة يمكن لخلايا هذه البكتيريا أن تولد الطاقة اللازمة لبناء بروتوبلازمها المعقد التركيب والمكون من بروتينات ودهون ، وكربوايدرات وبروتينات نووية وغير ذلك من المواد المعقدة . وفي الطرف الآخر من المجال (جدول رقم ٧) فأننا نجد بعض البكتيريا لا تستطيع النمو إلا إذا أضيف إلى بيئة النمو كربون عضوى (جلوكوز) ، وأحماض أمينية ، وأحماض نووية أو مكوناتها ( purines, pyrimidines ) وفيتامينات ، حيث أن هذه الكائنات تخمر سكر الجلوكوز مبدئيا للحصول على ما يلزمها من طاقة . وبين هاتين المجموعتين من البكتيريا تقع مجاميع بكتيرية عديدة أخرى تتدرج في تعقيد احتياجاتها الغذائية ، ويمكن التمييز بينها على أساس احتياجاتها من المصدر الكربونى . فالبكتيريا التي تستعمل ثانى أكسيد الكربون كمصدر وحيد للكربون تعرف بالبكتيريا ذاتية التغذية autotrophes والبكتيريا التي لا تقدر على ذلك بل تتطلب مصدرا عضويا من الكربون تعرف بالبكتيريا غير ذاتية التغذية heterotrophes .

والبكتيريات ذاتية التغذية يمكنها أن تنمو وتتكاثر على بيئات غير عضوية كلية تتركب من أملاح معدنية في وجود الماء ، والبكتيريات غير ذاتية التغذية قد تستعمل مصدرا غير عضوى أو عضوى من النيتروجين ولكنها فى كل الحالات تتطلب مصدرا عضويا من الكربون . ويمكننا هنا أن نتساءل عن أى المجموعتين نشأ من الآخر أثناء نشوئه وتطوره ؟ . من المصطلح عليه أن البكتيريات جميعا نشأت وتطورت من أجداد ذاتية التغذية كانت تستعمل المصادر الغذائية غير العضوية وتستعمل الطاقة المتكونة فى تحويل ثانى أكسيد الكربون إلى مركبات عضوية بروتوبلازمية ، وأن بعض البكتيريات قد فقدت هذه الخصائص واحدة تلو الأخرى على مر الزمن . وأن التدرج فى الاحتياجات الغذائية الذى تظهره البكتيريا ما هو إلا نتيجة هذا التطور بعيداً عن ذاتية التغذية autotrophism ومتجها نحو الاعتماد فى الحصول على الغذاء على كائنات حية أخرى كما هو الحال فى ظاهرة التطفل وهى آخر مراحل هذا التطور .

ومن الناحية الأخرى قد يعتقد البعض أنه لما كانت البكتيريات غير ذاتية التغذية تعتبر أبسط من ذاتية التغذية فى قدراتها التخليقية فيمكن القول أن البكتيريات ذاتية التغذية قد نشأت من كائنات غير ذاتية التغذية نتيجة لأكتسابها صفات تخليقية جديدة أثناء خطوات التطور المختلفة . ولكن مما يؤيد النظرية الأولى أنه عند إحداث تغيرات وراثية بالبكتيريا وذلك بتعريضها للأشعة فوق البنفسجية أو الأشعة السينية لانتاج طفرات بيوكيمائية فإن الاتجاه الغذائى للطفرات يكون دائماً نحو زيادة التعقيد فى الاحتياجات الغذائية أو بمعنى آخر نحو غير ذاتية التغذية heterotrophism . وليس فى الاتجاه المغاير .

## المراجع

- Committee on Bacteriological Technique, Society of American Bacteriologists «Manual of Microbiological Methods» Mc Graw-Hill Book Co. Inc. N. Y., 1957.
- Koser, S.A. 1948 Growth factors for microorganisms. Ann. Rev. Microbiol., 2 : 121.
- Krehl, W. A. and S. J. Liao 1951. Nutrition of bacteria and fungi. Ann. Rev. Microbiol., 5 : 121.
- Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. Mc Carty, 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York. 769 p.
- Oginsky, E.L. and W.W. Umbreit, 1954. An Introduction to Bacterial Physiology. W.H. Freeman & Co. San. Fransico.
- Pelczar, M.J. and J.D. Reid 1958. Microbiology, Mc Graw-Hill Book Co. N.Y., Toronto, London.
- Stockes, J.L. 1952, Nutrition of Microorganisms. Ann. Rev. Microbiol. 6 : 29.
- Snell, E.E. 1949. Nutrition of microorganisms. Ann. Rev. Microbiol., 6 : 29.
- Snell, E.E. 1951. Bacterial Nutrition - «Chemical Factors» in C.H. Werkman and P.W. Wilson (eds). Bacterial Physiology. Academic Press. Inc. N. Y.
- Stanier, R.Y., M. Doudoroff, and E.A. Adelberg. 1971. General Microbiology. The Macmillan Press LTD. London and Tonbridge. 873 p.

### الفصل الثالث

#### الظروف الفيزيائية التي تؤثر على نمو البكتيريا

#### Physical conditions affecting bacterial growth

ان دراسة الأسس الفسيولوجية للظروف البيئية للبكتيريا قد اسفرت عن تحديد العوامل الفيزيائية المختلفة التي تؤثر على نمو وتأقلم مختلف المجاميع البكتيرية في الطبيعة . ومن الملاحظ أنه كلما قل عدد العوامل الفيزيائية التي تحدد نمو مجموع بكتيري معين في بيئة ما ، كلما سهل التعرف عن سبب تأقلم هذه البكتيريا في هذه البيئة الطبيعية .

فالبكتيرياات الأرضية *terrestrial bacteria* تتأثر بالتقلبات المختلفة التي تحدث للظروف البيئية الفيزيائية كالحرارة ، والضغط ، والتهوية والحموضة والاشعاعات .

والكائنات الحية الدقيقة التي تتواجد في الطبقات العليا من مياه البحار لا تختلف كثيرا عن البكتيرياات الأرضية نظراً لتشابه ظروفها البيئية فيما عدا ارتفاع ملوحة مياه البحار . أما فيما يختص بالبكتيرياات التي تعيش في أعماق المحيطات فإنها تعيش تحت ظروف من الحرارة والضغط لا يتحملها أكثر البكتيرياات الأرضية مقاومة للظروف غير الملائمة . والدراسات التي أجريت على بكتيريا الأعماق هذه والتي تم عزلها من رواسب أعماق المحيطات على أبعاد تصل إلى ١٠,٠٠٠ قدم فأكثر ، اسفرت عن امكان تنمية هذه الكائنات صناعيا في ظروف تختلف عن الظروف السائدة في بيئاتها الطبيعية ألا وهي الملوحة المرتفعة ، والضغط المائي المرتفع والحرارة المنخفضة . وبمقارنة بكتيريا الأعماق بالبكتيرياات الأرضية أو تلك التي تعيش في المناطق السطحية من مياه البحار أمكن التعرف على أجناس بكتيرية متشابهة تماما من الوجهة التقسيمية ، من ذلك يمكننا أن نفترض أن بروتوبلازم بكتيريا الأعماق هذه تعمل بطريقة أفضل تحت ظروف تختلف عن الظروف الملائمة لنمو الأنواع



البكتيرية الأرضية ، وأن الاختلاف في هذه الظروف يتمثل فقط في الضغط سواء كان ضغطا مائيا أو اسموزيا .

وسوف نتناول فيما يلي مناقشة بعض الظروف الفيزيائية التي تؤثر على نمو ونشاط البكتيريا بشيء من التفصيل . ويجب أن نعلم أنه من الصعب تحديد تأثير الظروف الفيزيائية وتميزها عن تأثير الظروف الكيميائية حيث أن تأثيراتها قد تكون متداخلة بدرجة ملحوظة . فمثلا إذا كانت خلايا نوع بكتيري معين تتأثر بالإشعاع الالكتروني فإن هذا التأثير يتضمن تأثيرا فيزيائيا وكيمائيا معا . ومع ذلك فقد اتبعنا هنا النظام الذي يعتبر تأثيرات الحرارة والضغط والتهوية والإشعاع والحموضة ، تأثيرات فيزيائية .

#### ١ - الحرارة : Temperature

من المعروف أن خلايا البكتيريا لا يمكنها النمو على درجات حرارة تزيد أو تقل عن تلك السائدة في بيئاتها الطبيعية وفيما يختص بتأثير الحرارة وتأقلم الخلايا البكتيرية نفترض أن الخلايا البكتيرية والبيئة النامية بها تكون ذات درجة حرارة متشابهة ، وأن الحرارة التي تنطلق في الخلايا نتيجة للعمليات الأيضية المختلفة بالخلية تفقد منها عن طريق الإشعاع الحراري أو التحول أو بكتلتا الطريقتين . وتتلخص دراسة تأثير الحرارة على البكتيريا في معرفة قدرتها على النمو بقوة أو ببطء أو توقفها عن النمو على درجات الحرارة المختلفة (المرتفعة والمنخفضة) ، كما تشمل أيضا دراسة قدرة الخلايا على تحمل الدرجات القصوى والدنيا من الحرارة عندما تعرض لها لفترات قصيرة .

إن النطاق الحراري الذي يسمح لنمو البكتيريات بصفة عامة يتراوح بين صفر إلى ٧٥°م . هذا ولكل نوع بكتيري - أحيانا لكل سلالة - نطاق حراري يقع في حدود الدرجة الدنيا minimum ، والدرجة القصوى maximum وتقع بينهما درجة الحرارة المثالية لنموه . optimum .

جدول ٨ : يوضح المجال الحرارى للبكتيريات المحبة للحرارة المرتفعة والمتوسطة والمنخفضة

درجة الحرارة °م			المجموعة
القصوى	المثلى	الدينيا	
محبة للحرارة المرتفعة			
٨٠ — ٦٠	٧٥ — ٥٥	٤٥ — ٤٠	Thermophiles
محبة للحرارة المتوسطة			
٤٧ — ٣٥	٤٥ — ٣٠	١٥ — ١٠	Mesophiles
Psychrophile محبة للحرارة المنخفضة			
٢٢ — ١٩	١٨ — ١٥	(٥+) — (٥-)	Obligate إجبارية
٣٥ — ٣٠	٣٠ — ٢٥	(٥+) — (٥-)	Facultative إختيارية

ودرجة الحرارة المثالية optimum هي درجة الحرارة التى تسمح بحدوث أسرع نمو خلال فترة حضانة قصيرة نسبيا تراوح بين ١٢ — ٢٤ ساعة الا أنه يمكن الحصول على عدد كلى أكبر من الخلايا البكتيرية عندما يحتفظ بالزرعة البكتيرية لفترة حضانة طويلة على درجة من الحرارة تقل عن الدرجة المثالية . ويجب أن نعلم أن الدرجة الحرارية المثلى للنمو ليس من الضرورى أن تكون هي نفس الدرجة المثلى للنشاط الحلوى الأنزيمى .

إن معدل التفاعلات الكيماوية عموما تتأثر بدرجة حرارة التفاعل فسرعة التفاعل تتضاعف بزيادة الحرارة بما قيمته ١٠ درجات مئوية . وقد وجد أن هذا صحيحا فيما يختص بالنمو البكتيرى بصفته يتم نتيجة لحدوث تفاعلات كيماوية

حيوية بداخل الخلايا في حدود حرارية تتراوح بين ٢٠ - ٤٠°م حيث أن ارتفاع درجة الحرارة عن هذا الحد سوف يفسد البروتين الأنزيمى الخلوى . لذلك فإن محصلة تأثير درجات الحرارة المتزايدة على خلايا البكتيريا هو زيادة سرعة التفاعلات الكيماوية بالخلية والتي من شأنها بناء البروتوبلازم وإنتاج الطاقة . كما أنها تشمل أيضا التفاعلات التي من شأنها افساد أو هرجلة البروتينات الخلوية .

فدرجة الحرارة تحدد جزئيا معدل النمو وكميته النهائية وقد تؤثر أيضا على العمليات الأيضية على الشكل المظهرى للخلايا . فكل نوع بكتيرى ينمو على درجة مثالية من الحرارة تقع في مجال حرارى معين ، وعلى أساس المجال الحرارى الخاص والذي في نطاقه تنمو البكتيريات ، أمكن تقسيم البكتيريا (جدول ٨) إلى ما يلى :

١ - بكتيريا محبة للحرارة المنخفضة psychrophiles وهى التى يوجد نموها على درجات الحرارة المنخفضة وهى تقسم إلى مجموعتين إحداهما إجبارية Obligate psychrophiles وهى التى تموت عند حرارة ٢٠°م أو أكثر قليلا والمجموعة الأخرى Facultative psychrophiles فإن درجتى الحرارة المثلى والقصى لا تكونان في الطاق الحرارى للمحبة للحرارة المنخفضة .

٢ - بكتيريا محبة للحرارة المتوسطة mesophiles وتقع درجة حرارتها المثالية للنمو بين ٣٠ - ٤٥°م .

٣ - بكتيريا محبة للحرارة المرتفعة thermophiles وتقع درجة حرارتها المثالية بين درجتى ٥٥ - ٧٥°م وقد يمتد مجال بعض البكتيريات المحبة للحرارة المرتفعة إلى مجال البكتيريات الميزوفيلية وتعرف هذه الأنواع بالمحبة للحرارة اختياراً facultative thermophiles أو eurithermophiles والبعض الآخر من البكتيريا الثيرموفيلية يكون نموها على أشده على درجة ٦٠°م ولا تنمو على درجات الحرارة الواقعة في مجال البكتيريات الميزوفيلية. وهذه الأنواع تسمى بالبكتيريا المحبة للحرارة حقيقة true thermophiles أو

stonothermophiles وأحيانا يطلق على الخلايا البكتيرية التي تقاوم الحرارة وهي في حالتها الخضرية اسم البكتيريات المتحملة للحرارة thermoduric بالرغم من عدم وجود حد فاصل (في درجة الحرارة أو وقت التعرض لها) بين البكتيريات الحساسة والمتحملة للحرارة .

### تأثير درجات الحرارة المنخفضة :

عند انخفاض درجة الحرارة فان النشاط الأيضي للخلايا يقل بسرعة ملحوظة ويحدث ذلك عند الاقتراب من درجة حرارة التجمد . ويجب أن نعلم أن هذه التفاعلات لا توقف كلية على مثل هذه الحرارة — حيث يمكن لبعض الاعفان أن تنمو على اللحوم المحفوظة عند درجة — ١٠°م كما أمكن عزل بعض البكتيريات التابعة لجنس *Bacillus* والتي يمكنها أن تحلل اليوريا على درجات من الحرارة تتراوح بين — ٢ أو — ٤°م . وعموما فان تعريض خلايا البكتيريا إلى درجات من الحرارة دون درجة التجمد لا يقتلها . كلية ، فبالرغم من سرعة موت غالبية الخلايا على هذه الدرجات إلا أن أعدادا متوسطة منها تظل حية . فقد وجد أن خلايا *E. coli* تتحمل الحرارة شديدة الانخفاض (درجة — ٢٠°م) بمعدل أفضل من تعرضها لدرجة (— ٢°م) وحتى البكتيريات الرهيفة مثل أفراد رتبة *Spirochaetales* وبخاصة البكتيريا *Treponema pallidum* يمكنها أن تعيش لمدة طويلة على درجة حرارة — ٧٨°م دون أن تتأثر قدرتها المرضية . ويبدو أنه عقب موت بعض خلايا المزرعة نتيجة للتعرض إلى درجة التجمد فان الخلايا المتبقية ينخفض معدل موتها بدرجة ملحوظة . وقد وجد أن عددا من البكتيريا يمكنها أن تقاوم درجات حرارة الغازات السائلة . فقد وجد أن البكتيريا *Streptococcus lactis* يمكنها أن تتحمل درجة حرارة الهواء السائل (— ١٩١°م) لمدة ١١١ يوما يمكن بعدها أن تواصل نموها بنفس السرعة وأن ٩٩٪ من خلايا الخميرة تقتل خلال ثلاثة أيام من حفظها على هذه الدرجة ولكن الجراثيم الاسكية لخلايا الخميرة وغيرها من الفطريات كانت أكثر مقاومة . فمن الناحية العملية يمكن

القول أن الأغذية المجمدة والثلج يمكنها أن تحمل ميكروبات ممرضة بالرغم من درجة حرارتها المنخفضة . فبكتيريا التيفود مثلاً يمكن عزلها من الأغذية المجمدة التي أمكن حفظها لمدة عام على درجة -٢٠°م . ويمكن القول أن عدم تأثير الخلايا البكتيرية الملوثة للأغذية المجمدة يرجع جزئياً إلى انفصال بلورات الثلج والتي تكون عادة خالية من خلايا البكتيريا تاركة هذه الخلايا مركزة في الجزء السائل من الغذاء والذي لا يتجمد عادة على درجات التجمد العادية . هذا وتعرض الخلايا البكتيرية إلى التجميد والاسالة المتكررة يحدث تأثيراً ضاراً بالخلايا البكتيرية عنه في حالة التجميد البسيط .

ويجب أن نعلم أنه بدرجات الحرارة المنخفضة يقل التأثير الضار على البروتين الخلوى إذا لم تصل درجة الحرارة إلى ما دون التجميد بدرجات كبيرة . وإذا حدث التجمد بسرعة فائقة ليتكون نتيجتها بلورات ثلجية صغيرة جداً فإن ذلك يضمن الاحتفاظ بحيوية الخلايا . وقد أمكن إيجاد طريقة لحفظ الخلايا البكتيرية لمدة طويلة جداً تصل إلى ٢٠ سنة أو أكثر ، وذلك بتجميد وتجفيف المزارع بسرعة ، وتعرف المزارع المحفوظة بهذه الطريقة باسم lyophilized .  
تأثير درجات الحرارة المرتفعة :

تزداد سرعة العمليات الأيضية الخلوية بزيادة درجة الحرارة إلى حد محدود حيث أن الزيادة في النشاط الأيضي على الدرجات المرتفعة من الحرارة يكون مصحوباً بزيادة في فساد البروتين الأنزيمي أيضاً . إذن فحدوث النمو على مثل هذه الدرجات المرتفعة من الحرارة يعنى حدوث توازن بين العمليات الحيوية المختلفة بمعنى أن العمليات التي من شأنها تعويض البروتين بالخلية تفوق سرعة فساد البروتين نفسه نتيجة للحرارة المرتفعة .

ومقاومة الخلايا البكتيرية لدرجات الحرارة المرتفعة (أعلى من الحد الأقصى للنمو) تعنى أن الفساد الذي قد يحدث للبروتين الخلوى لم يشمل البروتين الأنزيمي الخاص بعملية التعويض أو الإصلاح repair process بحيث أنه لو أعيدت الخلايا إلى الدرجات الملائمة للنمو يمكنها أن تستأنف نشاطها



وقد أظهرت الأبحاث أن درجة الحرارة القصوى لأي نوع بكتيري تقع مباشرة تحت درجة الحرارة الدنيا لتثبيط البروتين الأنزيمي الحلوى . أو بمعنى آخر أن أقل درجة من الحرارة يمكنها أن تثبط الأنزيمات تكون أعلى قليلا من درجة الحرارة القصوى للنمو . وبما أن لكل نوع بكتيري درجة حرارة قصوى خاصة به لذا فإن درجة الحرارة التي تثبط عندها الأنزيمات البكتيرية تختلف تبعاً للنوع البكتيري . فقد وجد أن أنزيمات البكتيريا *Bacillus mycoides* يقل نشاطها على درجة حرارة ٤١°م في حين أن خلاياها تنمو على درجة ٤٠°م وليس على درجة ٤١°م . وفي حالة *Bacillus subtilis* تثبط أنزيماتها عندما تصل درجة الحرارة إلى ٥٥°م في حين أن الخلايا يمكنها أن تستمر في نموها على درجة ٤٥°م وتتوقف عن النمو في الدرجات الأعلى من الحرارة . ولا يوجد من الأدلة ما يفيد ما إذا كانت كل الأنزيمات الخلوية تتأثر أو تثبط بنفس الدرجة المرتفعة من الحرارة .

وقد وجد أن أنزيمات البكتيريا المحبة للحرارة وخاصة أنزيم cytochrome oxidase وأنزيم malic dehydrogenase وأنزيم hexokinases تكون مقاومة للتثبط الحراري حتى بعد عزلها من الخلايا في صور نقية . ولا يمكن أن يقال أن مثل هذه الأنزيمات تكون محمية باتحادها مع بعض البروتينات الغروية بالخلية والمقاومة للحرارة بل يعزى مقاومة هذه الأنزيمات للتثبط الحراري إلى تركيب الأنزيم في حد ذاته فإن هذا التركيب يساعد على مقاومتها للحرارة ، علاوة على أن هذه الأنزيمات تعمل في ظروف الحرارة المرتفعة بدرجة أسرع منها في الدرجات المتوسطة من الحرارة . والاختلاف في الطاقات الحرارية للبكتيريا الميزوفيلية قد يرجع بالمثل إلى الاختلافات في طبيعة البروتين الأنزيمي الذي يختلف من نوع إلى آخر . فقد عزلت هذه الأنزيمات من خلايا البكتيريا المحبة للحرارة ووجد أن نشاطها يقل بمعدل ٥٠٪ عندما تعرض لدرجة ٦٥°م لمدة نصف ساعة على حين أن نفس الأنزيمات المعزولة من البكتيريا الميزوفيلية يزول نشاطها كلية بعد تعريضها لمدة ٥ دقائق لنفس درجة الحرارة .

ومن الملاحظ أنه إذا أوقف نشاط انزيم معين ، مسئول عن تكوين مادة ابيضية ضرورية للنمو ، نتيجة لارتفاع درجة حرارة البيئة ، فإن الكائن البكتيرى يتوقف نموه كلية ما لم تضاف إلى بيئته الغذائية تلك المادة الأبيضية التى امتنع تكوينها بالرغم من وجود النظام الانزيمى الخاص بتجهيزها بالخلية والذى يعمل على الدرجات المنخفضة من الحرارة . ولزيادة فى الإيضاح نسوق الأمثلة التالية : أولا عند تنمية البكتيريا *Lactobacillus arabinosus* على درجة حرارة ٢٦°م فى وجود الهواء الجوى فأنها تنمو بدون الحاجة إلى اضافة الأحماض الأمينية الآتية : التايروسين ، والفينيل الانين وحمض الاسبارتيك ، ولكن إذا نمت هذه البكتيريا على درجة حرارة ٣٧°م فإنه يلزم اضافة التايروسين والفينيل الانين إلى بيئة نموها . أما إذا نمت على درجة ٣٩°م فإنه يلزم اضافة حمض الاسبارتيك علاوة على الحمضين الامينيين المذكورين .

ومثال آخر لتأييد هذه النظرية أن أحد السلالات الطفرية للبكتيريا *E. coli* يتطلب اضافة الفيتامين *Pantothenic acid* فقط عندما تحضن مزارعها على درجة حرارة أعلى من ٣٠°م حيث وجد أن الانزيم الذى يمكنه أن يخلق هذا الفيتامين يفقد نشاطه بدرجة واضحة فى مثل هذه الحرارة ، وعلى النقيض فإن خلايا *E. coli* الأصلية ، التى اشتقت منها السلالة الطفرية السابقة الذكر لا تتطلب اضافة هذا الفيتامين على أى درجة من الحرارة بمعنى أن انزيمها المسئول عن تخليق هذا الفيتامين لا يثبط نشاطه بالحرارة المرتفعة .

والتفسير الأقرب إلى الحقيقة لتأثر الاحتياجات الغذائية بدرجة حرارة التحضين هو أن النظم الانزيمية المسئولة عن تجهيز بعض المواد الضرورية للنمو يثبط نشاطها بالدرجات المرتفعة من الحرارة أثناء فترة الحضانة .

وعند درجات الحرارة فوق الحد الأقصى للنمو لا يمكن لعمليات التعويض أو الاصلاح بداخل الخلية أن تعوض كل البروتينات التى تفسد ،

فيقل بذلك عدد الخلايا الحية . وقد وجد أن موت الخلايا نتيجة لأرتفاع درجة الحرارة يتم طبقاً لنظام لوغاريتمى بمعنى أن معدل الموت يزداد باضطراد بأرتفاع درجة الحرارة. ومن المقطوع به أن الفعل المميت للحرارة يزداد بدرجة واضحة في وجود الماء حيث أن البروتينات عموماً تتأثر وتفسد بدرجة أسرع في الحرارة الرطبة أكثر منها في الحرارة الجافة .

### المقاومة الحرارية للجراثيم البكتيرية والبكتيريات الترموفيلية

من الصعب تفهم الطريقة التي تقاوم بها الجراثيم البكتيرية درجات الحرارة المرتفعة فالجراثيم لا تكون معزولة عن فعل الحرارة حيث أن أغلفة الجرثومة التي لا يزيد سمكها عن ٠.٢ من الميكررون لا تكون عاملاً عازلاً لها عن حرارة البيئة . إلا أن الانزيمات الجرثومية عادة يفسد بروتينها في درجات الحرارة الأقل من ١٠٠°م في حين أن بعض البروتينات مثل الاليومين تتجمع بسرعة في درجة حرارة ٧٠°م . كما وجد أن البروتينات تكون مقاومة للتجمع الحرارى عندما تكون في صورة جافة ، فالاليومين المحفف يمكن أن يسخن إلى درجة ١٧٠°م دون أن يفقد قدرته على الذوبان في الماء البارد . هذا ووجد أن الانزيمات عندما تكون في صورة جافة تظهر نفس المقاومة الحرارية ، لذلك فقد اقترح البعض أن درجات الجفاف العالية التي تتميز بها الجراثيم البكتيرية تجعلها أكثر مقاومة للحرارة المرتفعة . وهذا الاقتراح بالرغم من أنه معقول إلا أنه لم يؤيد بعد بدليل قاطع . فعند مقارنة محتويات الجراثيم بمحتويات الخلايا الحضرية بعد توحيد المحتويات المائية في كل منها لم يلاحظ اختلاف ما في درجة مقاومتها للحرارة المرتفعة . ويقترح البعض أن ما تحتويه الجراثيم البكتيرية من الماء ، وهو عادة قليل جداً ، يكون مرتبطاً بالبروتينات بطريقة غير صالحة للتفاعلات الكيماوية تماماً كالماء البلورى في بلورات المواد الكيماوية . هذا والمحتويات الانزيمية القليلة بالجراثيم البكتيرية تكون أكثر قدرة على مقاومة الحرارة المرتفعة

فبمقارنة الانزيم الانين راسيماز alanine racemase المعزول من جراثيم البكتيريا *Bac. terminalis* ومن خلاياها الخضرية وجد أن الانزيمات المعزولة من الجراثيم تتحمل التعرض لمدة ساعتين لدرجة ٨٠° م في حين أن نفس الانزيم المعزول من الخلايا الخضرية تفسد بعد تعرضها لمدة ١٥ دقيقة إلى نفس درجة الحرارة من ذلك يمكن القول أن الانزيمات الموجودة بخلايا البكتيريا الميزوفيلية وكذلك الجراثيم يكون في وسعها مقاومة الحرارة المرتفعة بدرجة أكبر من غيرها .

وهناك اقتراح آخر هو أن مقاومة الجراثيم أو الخلايا الترموفيلية للحرارة المرتفعة يحدث نتيجة لوقاية البروتين الجرثومي بواسطة البروتينات أو الدهون الغروية . فمثلا يلزم درجات أعلى من الحرارة لقتل بكتيريا حمض اللاكتيك العالقة في القشدة عنها لقتل البكتيريا عندما تكون عالقة في اللبن وهذه تكون أعلى من التي تلزم لقتلها عندما تكون عالقة في ماء الببتون . وتزداد مقاومة جراثيم البكتيريا *Cl.botulinum* إذا نمت في بيئة تحتوي على أحماض دهنية ذات سلاسل كربونية طويلة ويرجع ذلك إلى زيادة محتويات الجراثيم من الدهون تحت هذه الظروف .

## ٢ — الضغط : Pressure

معظم البكتريات المعروفة تنمو وتقوم بكل وظائفها تحت الظروف العادية من الضغط (١٤,٧ رطل على البوصة المربعة) كما أن الاختلافات الطفيفة في الضغط الجوى العادى لا تؤثر عليها كثيراً . وبالرغم من أنه ليس للضغط تأثير فعلى على البكتريات الأرضية إلا أن دراسة تأثيره على البكتيريا تبين لنا كيفية نمو وتكاثر بكتيريا الأعماق التي تعيش في البحار ، أو المحيطات أو في آبار الزيوت تحت ضغوط مائية hydrostatic مرتفعة :

ولمعرفة تأثير الضغط يلزم أن نعود لذكر التأثير المزدوج للحرارة المرتفعة على الوظائف الخلوية والذي يشمل : زيادة معدل التفاعلات الايضية ، وكذلك

زيادة معدل تثبيط البروتين الانزيمى . من ذلك نرى أن نمو الخلية البكتيرية أو حتى نشاط الانزيمات المعزولة منها على درجة حرارة معينة ، هو عبارة عن محصلة تأثيرين للحرارة أحدهما يزيد من معدل النمو أو النشاط والآخر يقلل منها ، وارتفاع الضغط المائى فى مثل هذه الدرجة من الحرارة قد يحدث واحدا من تأثيرات ثلاث :

١ - قد تحدث هرجلة للبروتينات البكتيرية نتيجة لارتفاع الضغط وحده وقد يحدث ذلك فى درجات الحرارة العادية إذا ارتفع معدل الضغط بدرجة كبيرة تصل إلى ١٠,٠٠٠ ضغط جوى (الضغط الجوى = ١٤,٧ رطل/البوصة<sup>٢</sup>) إلا أنه فى درجات من الضغط الأقل كثيراً من القيمة المذكورة (١/٠ أو أقل) لا تحدث هرجلة ملحوظة للبروتين البكتيرى .

٢ - ان ارتفاع الضغط قد يعكس الفعل الضار لدرجات الحرارة الزائدة عن الدرجة المثالية لنظام انزيمى معين سواء كان بخلايا بكتيرية أو فى صورة انزيمات معزولة منها . فمن المعروف أن زيادة معدل التفاعلات الانزيمية وكذلك هرجلة البروتينات نتيجة للحرارة المرتفعة تكون مصحوبة بزيادة فى الحجم الجزيئى (حجم الجزيئات الانزيمية) أو بمعنى آخر يكون مصحوبا بزيادة حجم النشاط إلا أن وجود الضغط المائى المرتفع فى هذه الظروف يمنع حدوث هذه الزيادة فى الحجم الجزيئى ، فلا يحدث نتيجة لذلك هرجلة للبروتين الانزيمى ولكن تستمر الزيادة فى معدل التفاعلات الانزيمية فى الاضطراد نتيجة لارتفاع درجة الحرارة . من ذلك نرى أن النمو البكتيرى لا يتوقف على درجات الحرارة الأعلى من الدرجة المثالية فى وجود الضغط المائى المرتفع أو بمعنى آخر يمكن للضغط المائى المرتفع أن يقي الخلايا من الفعل الضار لدرجات الحرارة الأعلى من الدرجة المثالية .

٣ - ان ارتفاع الضغط المائى عندما تكون درجات الحرارة أقل من الدرجة المثالية يؤدى إلى توقف النمو كلية حيث أن معدل النشاط الانزيمى



عندئذ يكون هو العامل الاساسى المحدد للنمو، أو بمعنى آخر فانه رغما عن عدم حدوث أى هرجلة للبروتينات الانزيمية نتيجة لزيادة الضغط إلا أن على درجات الحرارة الأقل من الدرجة المثالية ينخفض معدل النشاط الانزيمى بدرجة كبيرة عنها فى الأحوال العادية من الضغط .

ويبين الجدول التالى كيفية تأثير الضغط المائى المرتفع والحرارة على نمو بعض البكتيريات .

جدول رقم ٩ : الحرارة والضغط المائى على النمو البكتيرى

الكاثن البكتيرى			٣٠٠ ضغط جوى			٤٠٠ ضغط جوى			٥٠٠ ضغط جوى			٦٠٠ ضغط جوى		
١	٢	٣	١	٢	٣	١	٢	٣	١	٢	٣	١	٢	٣
بكتيريات أرضية :														
—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+
<i>Clostridium sporogene</i>														
—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>														
+	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+
<i>Ps. fluorescence</i>														
—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+
بكتيريات بحرية :														
—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+
<i>Achromobacter thalassui</i>														
+	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+
<i>Bac. submarinus</i>														
+	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+
<i>Bs. xanthocras</i>														
—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+

كل المزارع أعطت نموا غزيرا (+٤) فى درجات الحرارة المختلفة الثلاث على الضغط الجوى العادى فيما عدا *Ps. xanthocras* والتى لم تنم فى هذا الضغط على درجة ٤٠ م .

ويلاحظ من الجدول السابق أن البكتيريا البحرية التي تعيش في أعماق غائرة تظهر تحملا للضغط المرتفعة أكثر من غيرها . وفي أعلى درجات الضغط المستعملة يتوقف النمو نتيجة لما ذكر سابقا تحت التأثيرات رقم (١، ٢) . ولكن على درجات الزرع المنخفضة فإن الضغط المرتفع يوقف النمو بالطريقة السابق شرحها تحت التأثير رقم (٣) . وفي درجة حرارة ٤٠°م وهي أقصى درجة من الحرارة استعملت في التجربة السابقة فإن النمو قد حدث حتى عند أعلى الدرجات من الضغط المائي . وفي حالة *Ps. xanthocrus* البحرية فإن النمو لم يحدث إطلاقا الا عند ارتفاع الضغط .

والضغط المرتفع قد يحدث تأثيره على البكتيريا بإيقافه لنموها

وأحيانا لا يتوقف النمو البكتيري نتيجة للضغط المرتفع ولكن هذه الظروف تؤثر على عملية الانقسام الخلوي حيث يظهر النمو فيما بعد بطريقة غير عادية . فكثر من البكتريات البحرية ينمو بشكل عصوي قصير تحت الدرجات المرتفعة من الضغط المائي (٣٤٠ — ٥٤٥ ضغط جوى) ، ولكنها تظهر بشكل خيوط طويلة تختلف عن مظهرها العصوي القصير المعتاد إذا ما عرضت للضغط الجوى العادي ، ولكن عندما يعاد النمو المحيطي إلى الظروف العادية من الضغط المرتفع فإن الخيوط تتجزأ بسرعة لتعطى المظهر العصوي القصير مرة أخرى . هذا وقد يحدث العكس في حالة بعض البكتريات الأرضية التي عندما تعرض إلى ضغط مرتفع يختل إنقسامها وتظهر بشكل خيوط طويلة . وتكوين النمو المحيطي تحت تأثير اختلاف الضغط عن المعتاد قد يرجع إلى التأثير الذي يحدث للتوازن الموجود بين الحالة السائلة والحالة الجيلاتينية (  $sol \rightleftharpoons gel$  ) في البروتوبلازم . وعند اختلال هذا التوازن يمتنع زيادة لزوجة البروتوبلازم بالدرجة اللازمة لتكوين الأغشية السيتوبلازمية أثناء عملية الانقسام ، وهذا التفسير لازال تفسيراً نظرياً لم يؤيد بعد بأدلة تجريبية عملية ، إلا أنه يتمشى مع النظريات المعروفة لتأثير الضغط

على توازن المحتويات السائلة والجيلاتينية بالخلية sol-gel equilibria والضغط المائى المرتفع قد يمنع النمو كلية فى الدرجات المتوسطة من الحرارة نتيجة لإحداثه اضطرابات فى طريقة تجمع الانزيمات فى أماكنها الخاصة بداخل الخلية .

### الضغط الاسموزى :

يحدث الضغط الاسموزى المرتفع تأثيرا من نوع آخر على خلايا البكتيريا . فمعظم البكتيرياات فيما عدا البكتيرياات البحرية تنمو جيدا على تركيزات منخفضة من ملح الطعام أى عند ضغوط اسموزية متوسطة . وعمليات تحرك المحاليل خارج الخلية ودخول الماء إليها تبدو محكومة بالغشاء السيتوبلازمى كما سبق أن بينا وأنه هو الذى يهبط ضغطا اسموزيا داخل الخلية أكثر ارتفاعا منه خارجها . أما إذا عكس الوضع وتواجدت الخلايا فى بيئة تحتوى على تركيز مرتفع من المواد الذائبة ( ٥٠٪ أو أكثر ) فإن نمو هذه الخلايا يتوقف بدرجة ملحوظة . والتركيز المالحى المعوق للنمو يختلف باختلاف نوع الملح المستعمل (ص ٢ كل أو ص ٣ ك ١) وكذلك على الكائن البكتيرى المختبر حيث تختلف البكتيرياات فى قدرة تحملها للملوحة الزائدة من الأملاح المختلفة . فمثلا البكتيريا البحرية تنمو جيدا فى بيئات تحتوى على تركيز ٢٪ ملح طعام فى حين أن هذا التركيز قد يمنع نمو البكتيريا *E. coli* كلية .

وفى البيئات ذات الضغط الاسموزى المرتفع يتوقف النمو نتيجة لحدوث تجفيف dehydration لبروتوبلازم الخلايا نتيجة لخروج الماء منها بدرجة كبيرة حيث ينكمش البروتوبلازم بداخل الخلية مبتعدا عن الجدار الخلوى ، ومثل هذه الخلايا المبلزمة قد تعود مرة أخرى إلى حالتها الطبيعية إذا ما أعيدت إلى بيئة ذات ضغط اسموزى عادى .

والبكتيرياات المحبة للملوحة halophiles تتميز بقدرتها على النمو فى

بيئات تحتوى على تركيزات من ملح الطعام تمنع نمو البكتيريا العادية *nonhalophilic* والبكتيريا المحبة للملوحة هذه تتمثل في اعداد قليلة من الأنواع البكتيرية مثل أنواع *Habobacterium* و *Pseudomonas* و *Bacillus* ويمكن عزلها من الأسماك المملحة وغيرها من المواد ذات التركيز المرتفع من ملح الطعام ، ويمكن تنميتها في بيئات صناعية تحتوى على تركيز يتراوح بين ١٠ - ١٥٪ من ص كل ، والبعض من هذه البكتيريا قد يكون متحملاً للتركيزات المرتفعة من الأملاح وليس متطلباً لوجودها كشرط أساسى للنمو. ونمو مثل هذه البكتيريا في تركيزات مرتفعة من الأملاح يؤدي إلى ظهور نمو غير منتظم *involution forms* يشبه ذلك الذى يحدث في وجود بعض المضادات الحيوية ، ويلاحظ أن مثل هذه النوات غير الطبيعية لا يمكنها استمرار الحياة إذا زاد تعرضها للملوحة المرتفعة . إلا أنه لو أعيدت الخلايا إلى بيئاتها العادية فأنها تتخذ شكلها المعتاد وتواصل نموها مرة أخرى .

من المعروف أن القدرة على النمو في وجود تركيزات مرتفعة من ملح الطعام ١٠ - ١٥٪ لا تشابه القدرة على النمو في تركيزات مرتفعة من سكر القصب بدليل ان البكتيريا المحبة للملوحة لا يمكنها أن تواصل نموها في بيئات ذات تركيز مرتفع من سكر القصب والعكس صحيح - وهذا يبين أيضاً اختلاف ميكانيكية مقاومة الخلايا لكل من التأثيرين .

ولتفسير مقاومة الخلايا المحبة للملوحة للتركيزات المرتفعة من ملح الطعام نسوق الافتراضات التالية : ( أ ) أن البروتين الانزيمى في الخلايا البكتيرية المحبة للملوحة يكون مقاوماً للتثبيط بالتركيزات المرتفعة من الأملاح ، وقد اثبتت التجارب أن الانزيمات المعزولة من البكتيريا المحبة للملوحة تكون حساسة للتركيزات المرتفعة من الأملاح تماماً كإنزيمات البكتيريا العادية الأمر الذى يوضح عدم صحة هذا الافتراض .

(ب) أن الخلايا المحبة للملوحة تكون محاطة بمادة دهنية تمنع دخول الأملاح

اليها ، وبالرغم من وجود الأدلة على أن محتويات الخلايا المحبة للملوحة من الأملاح تكون عادة أقل من محتويات البيئة ، إلا أنه لا توجد أدلة على وجود الطبقة الدهنية أو أى طبقة أخرى غير منفذة للأملاح محيطية بالخلايا المحبة للملوحة . (ح) أن درجة انتشار الأملاح داخل الخلايا تتوقف على كمية الطاقة التى تستهلك فى منطقة الغشاء السيتوبلازمى ويبدو أن هذا الافتراض هو الأقرب إلى الصحة والصواب . فقد وجد أنه لو توقفت العمليات التى من شأنها توليد الطاقة بداخل الخلية فإن خلايا البكتيريا المحبة للملوحة تتوقف عن النمو نتيجة لزيادة تركيز الأملاح فى بيئة نموها ، مما يدل على أن الطاقة المولدة بداخل الخلايا تعمل إلى حد ما على منع دخول الأملاح إلى الخلايا . وكما سبق أن بينا أن هذا لا يفسر ما إذا كان هذا هو الذى يحدث أيضا فى حالة الكائنات الأخرى المتحملة للضغط الاسموزى المرتفع كالحميرة مثلا والتى يمكنها أن تنمو فى بيئات ذات تركيز من سكر القصب يقدر بحوالى ٧٠ ضغط جوى إلا أن نموها يتوقف كلية عند ما يصل تركيز ملح الطعام فى بيئتها إلى ٣٠٪ ، كما أن ذلك لا يفسر أيضاً عجز البكتريات المحبة للملوحة عن النمو فى بيئات خالية تماما من ملح الطعام .

### ٣ - الأكسجين :

أن توفر الهواء يعتبر من أهم الظروف التى تؤثر على نمو وتكاثر وتأقلم الكائنات الحية الدقيقة . ومن أهم الغازات المكونة للهواء الجوى والتى لها تأثير على نمو الكائنات هى الأكسجين وثنائى أكسيد الكربون ، ولكى نتفهم أهمية هذه العوامل يجب التعرف على طبيعة عمليات الأكسدة بوجه عام .

من المعروف أن كل النباتات والحيوانات الراقية تتطلب مصدرا مستمرا من الأكسجين لكى تواصل حياتها ، إلا أن بعض الحشرات يمكنها أن تستغنى عن الأكسجين لفترات قصيرة من دورة حياتها ، كما أن بعض



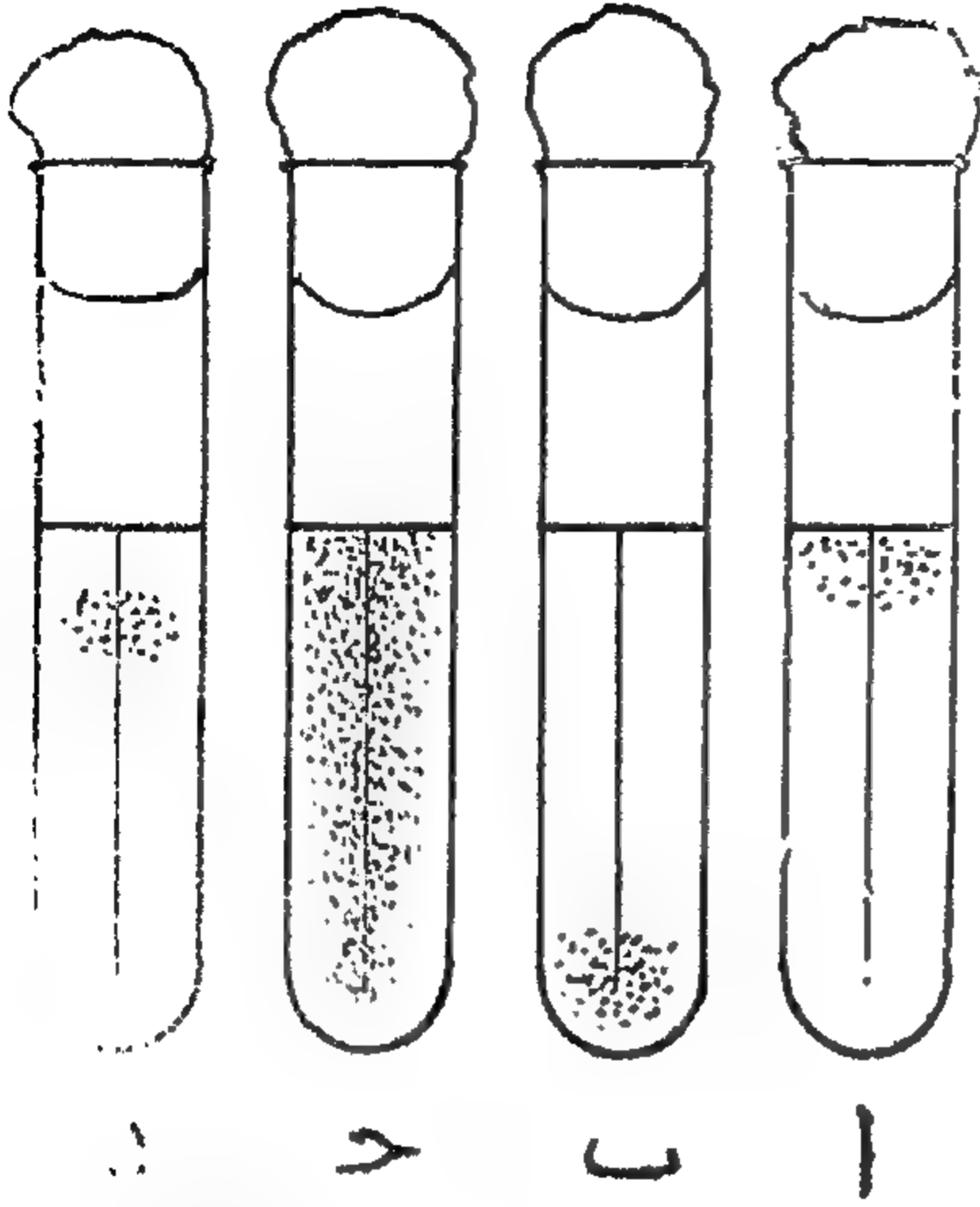
الحيوانات مثل الديدان الطفيلية يمكنها أيضا أن تنمو وتتكاثر في غياب الأكسجين ولكن الغالبية العظمى من الكائنات الراقية تعتمد عليه اعتمادا كليا.

وفيما يختص بالكائنات الحية الدقيقة وبخاصة البكتيريا ، فإنها قد تحتاج أو لا تحتاج إلى الأكسجين لمواصلة حياتها ونموها ، ويمكن تمييز أربعة مجاميع من هذه الكائنات تبعا لمتطلباتها من الأكسجين :

١ - بكتيريات هوائية اجبارية *strict aerobes* وهي التي تنمو وتتكاثر فقط في وجود الأكسجين ويمتنع نموها في غيابه مثل البكتيريا *Bacillus thermoliquifaciens* و *Pseudomonas delphini* والأنواع غير الممرضة من البكتيريا *Micrococci* و *Mycobacteria* .

٢ - بكتيريات غير هوائية اجبارا *Strict anaerobes* وهي تنمو وتتكاثر فقط في غياب الأكسجين وأنها تقتل إذا ما سمح للهواء بالتطرق إلى مزارعها. وتشمل هذه المجموعة البكتيريات المتجترمة التابعة لجنس *Clostridium* مثل *Cl. acetobutylicum* وبعض البكتيريات العصوية غير المتجترمة التابعة لجنس *Bacteriodes* والتي لازال يعرف عنها القليل . ولما كانت بعض البكتيريات التابعة لجنس *Clostridium* يمكنها أن تتحمل الضغط المنخفضة من الأكسجين لا يزيد عن ٢٠ ملليجرام / لتر لذلك فلا يمكن اعتبار هذه البكتيريات غير هوائية بالمعنى الصحيح ولكنها تعرف بالبكتيريات المتحملة لظروف التهوية *aerotolerant* .

٣ - والمجموعة الثالثة تتمثل في بكتيريا حمض اللاكتيك والتي تمثل مجموعة وسطية حيث أنها تنمو بدرجة أفضل في وجود كميات ضئيلة من الأكسجين ، وتعرف أفراد هذه المجموعة بأنها *Microaerophilic* مثل البكتيريا *Lactobacillus plantarum* وبعض أنواع جنس *Corynebacterium*



٤- بكتيريات اختيارية facultative

وهي التي تنمو وتتكاثر تحت كلا الظروف الهوائية وغير الهوائية، مثل

البكتيريا *Erwinia carotovora*

والبكتيريا *Streptococcus cremoris*

ويبين (شكل ٦٧) رسماً تخطيطياً

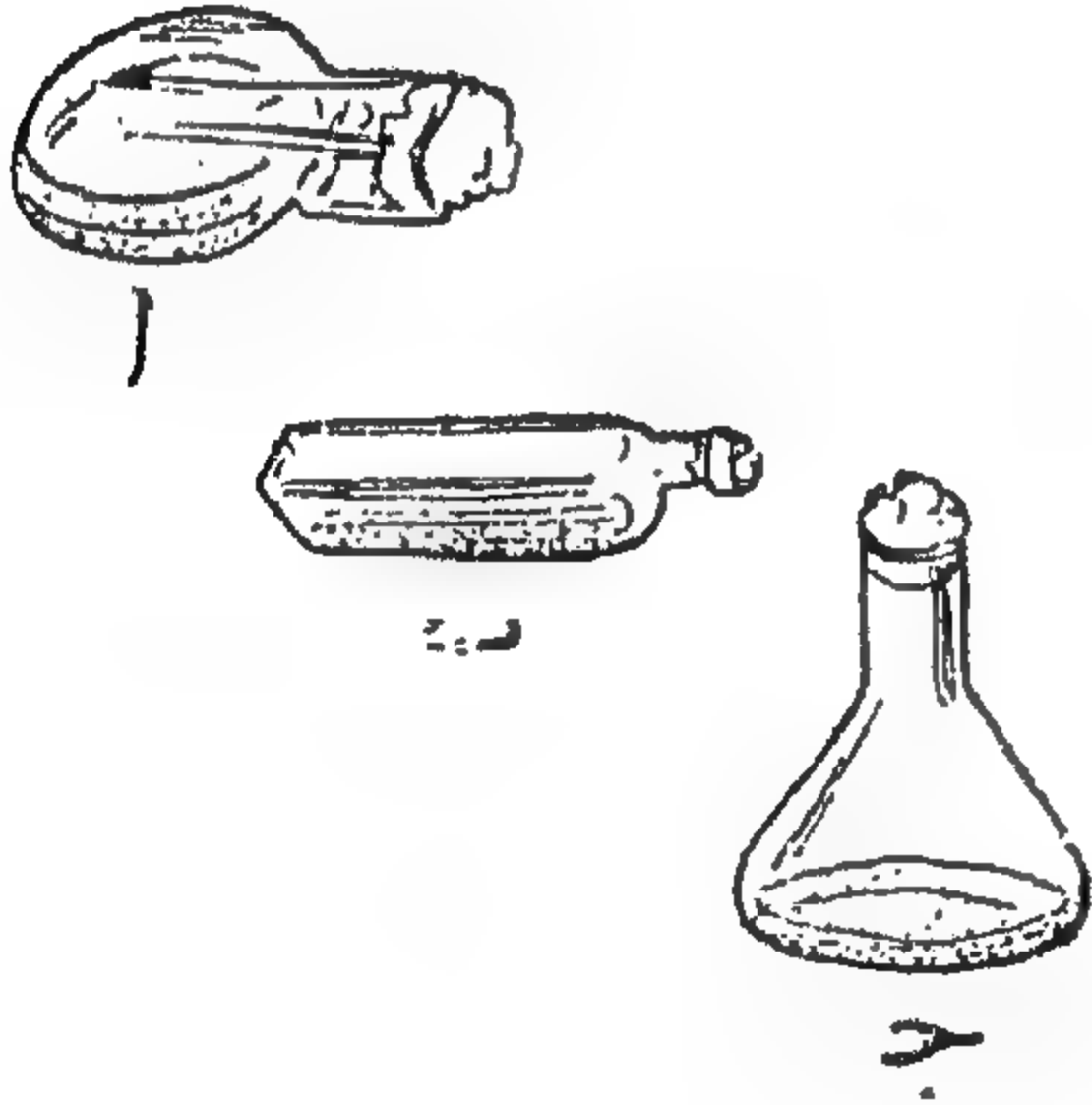
لطريقة نمو أفراد كل مجموعة من

المجاميع الأربعة على بيئة الآجار العميق

ولتنمية البكتيريات الهوائية يكفي

ترك الأنابيب أو الدوارق الصغيرة

شكل ٦٧ : رسم تخطيطي لنمو البكتيريات في أنابيب الآجار العميق مبيناً الاختلافات في احتياجاتها من الأكسجين أ- نمو هوائي، ب- نمو غير هوائي ج- نمو غير هوائي اختياري د- نمو يتطلب ضغط منخفض من الأكسجين Microaerophilic .



المحتوية عليها تحت الظروف العادية لتوفير

احتياجاتها من الأكسجين ، أما إذا أريد

الحصول على كميات أوفر من النمو فتزداد

درجة تعريض مزارع هذه البكتيريات

لهوائية إلى الأكسجين الجوي ، ويجري

ذلك عادة باستعمال طبقة رقيقة من البيئة

الغذائية تعباً في أوعية مناسبة مثل :

(أ) دوارق كول Kolle flasks

(ب) زجاجات روكسي Roux bottles

شكل ٦٨ : بعض الأوعية المستعملة في تنمية

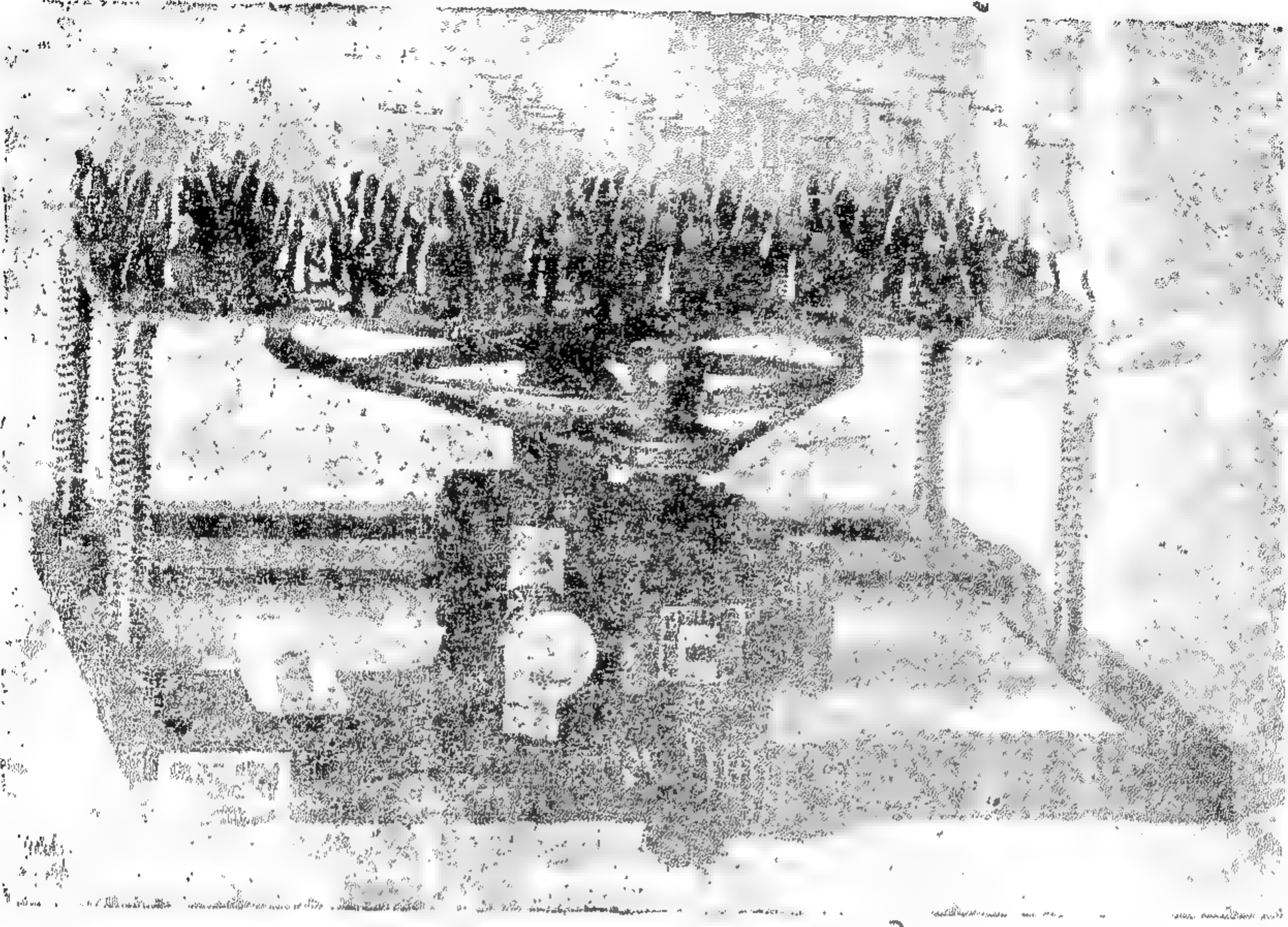
البكتيريات الهوائية والتي توفر زيادة تعريض

سطح البيئة للأكسجين الجوي أ- دوارق كول

(ج) دوارق فيرنباك Fernbach flasks ب- زجاجة روكسي ، ج- دوارق فيرنباك .

(شكل ٦٨)

ويمكن أيضا زيادة تهوية البيئة بتنمية البكتيريا الهوائية في بيئات غذائية

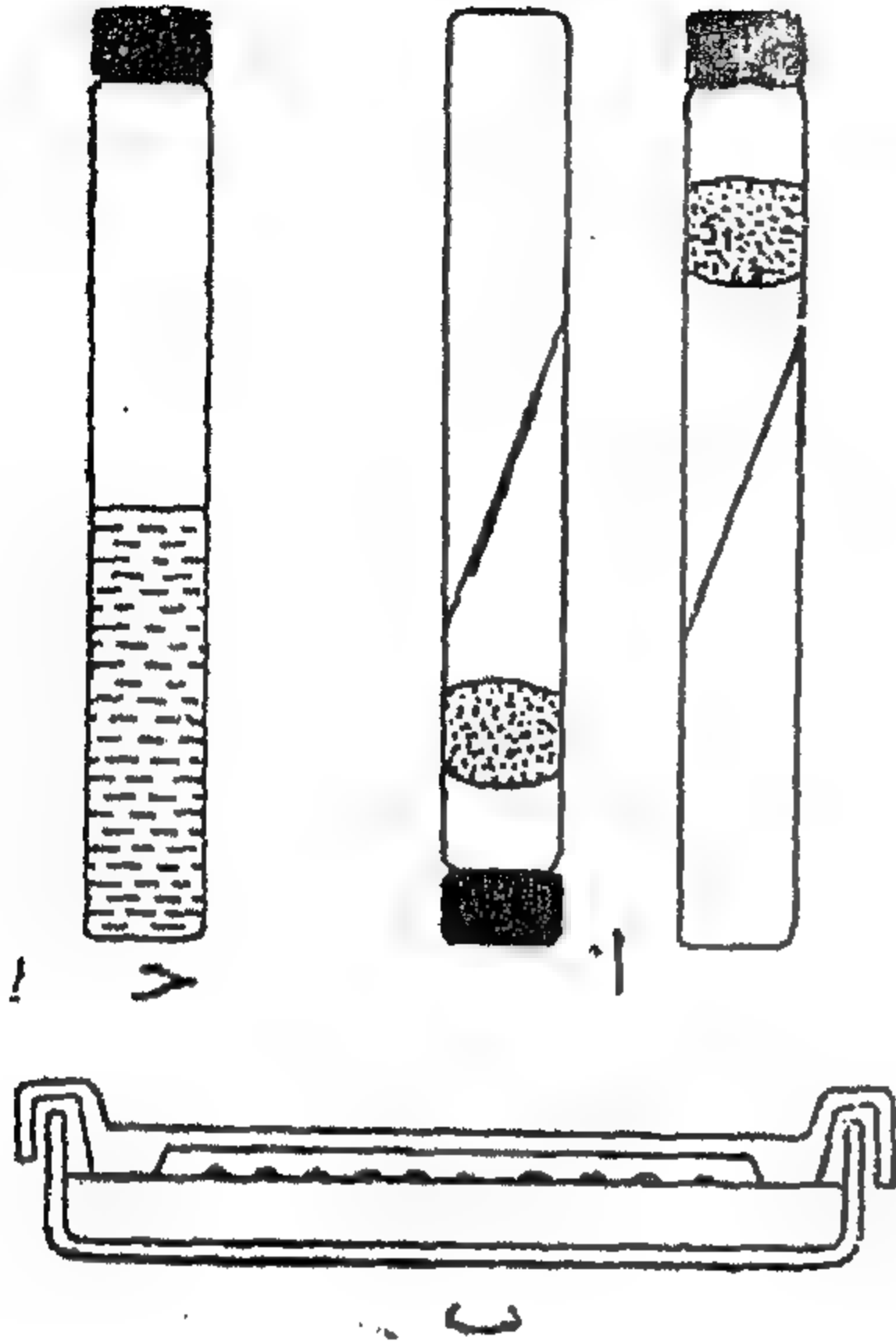


شكل ٦٩ : هزاز ميكانيكي (كهربائي) يؤدي حركة رحيوية لزيادة تهوية المزارع أثناء فترة الحضانة .

سائلة مع رجها باستمرار أثناء فترة الحضانة (شكل ٦٩) أو بتمرير تيار من الهواء المعقم خلال البيئة الملقحة أثناء فترة الحضانة على درجة الحرارة المثالية .

وتنمية البكتيريا غير الهوائية إجبارا تتطلب طرقا ومعدات خاصة إذ يجب ابعاد الأكسجين الجوي كلية عن البيئة قبل تلقيحها بالبكتيريا غير الهوائية ، وفيما يلي بعض الطرق المختلفة المتبعة لهذا الغرض :-

١ - اضافة بعض المركبات المحتزلة مثل ثيوجليكولات الصوديوم sodium thioglycollate إلى البيئة إذ أن ذلك يقلل محتوياتها من الأكسجين ويهيء بها ظروفا غير هوائية بدرجة كافية لتنمية البكتيريا غير الهوائية إجبارا .



٢ - إزالة الأكسجين ميكانيكياً من الأوعية المحتوية على البيئات الملقحة ويمكن إجراء ذلك بسحب الهواء عن طريق مضخة آلية وإحلال غاز النيتروجين ، أو خليط من النيتروجين وثاني أكسيد الكربون محله

٣ - إضافة بعض المواد الكيميائية التي عندما تتفاعل مع بعضها داخل الأوعية المغلقة والمحتوية على البيئات الملقحة ، يستهلك كل الأكسجين من البيئة نتيجة

[شكل ٧٠ : أ - طريقة حمض البيروجاليك وايدروكسيد البوتاسيوم لتوفير الظروف غير الهوائية يراعى قلب الأنبوبة بعد إضافة المواد المذكورة حتى لا تصل إلى سطح الآجار المائل الملقح ب - طبق بريور غير الهوائي Brewer anaerobi Jar يحتوى على آجار ثيوجليكولات الصوديوم - بيئة سائلة تحتوى على ثيوجليكولات الصوديوم في أنبوبة محكمة الفقل

لإتحاده مع بعض المواد المتفاعلة حيث يؤدي ذلك إلى توفير جوا غير هوائي. ومن أمثلة هذه المواد (حمض البيروجاليك + ايدروكسيد البوتاسيوم) .

والأدوات المستعملة وطريقة استعمال بعض هذه الطرق مبينة (بشكل ٧٠)

وسوف نعود لمناقشة التحولات الأيضية التي تتضمنها عمليات التنفس respiration ( وهي إزالة الايدروجين أو الالكترونات من المركبات العضوية وتوصيلها إلى الأكسجين الجوى) وعمليات التخمر fermentation (وفيها يستقبل الايدروجين أو الالكترونات المزالة بواسطة مركبات أخرى غير الأكسجين) وما يتبع هاتين العمليتين من تفاعلات ايضية مختلفة أخرى .



#### ٤ — تركيز أيون الهيدروجين :

ان لصغر حجم ايونات الهيدروجين ولسرعة تحركها أهمية كبيرة في العمليات الكيماوية المختلفة وخاصة العمليات البيولوجية ، حيث أن كثيرا من هذه العمليات يتطلب إنتقال الايدروجين من جزيئات مركب ما إلى جزيئات مركب آخر ، وميل الايدروجين للتأين من حالته العضوية المرتبطة يؤكد بشكل واضح احتمال حدوث هذه التفاعلات بالخلايا البكتيرية ومثل هذه التفاعلات لا تؤثر كثيرا في معدل نمو البكتيريات إنما يتأثر النمو بالعمليات التي من شأنها إطلاق ايونات الهيدروجين الحرة بالخلايا أو بالبيئة .

وتركيز أيونات الايدروجين يكون مخفضا عادة في البيئات الطبيعية التي تعيش عليها الكائنات الحية الدقيقة ، ولكن لا يمكن لأي كائن أن ينمو في بيئة خالية كلية من ايونات الايدروجين ، ولا يختلف تأثير تركيز ايونات الايدروجين عن تركيز ايونات المعادن ، حيث أن زيادة تركيزها بالبيئة يكون ساما للخلايا ، وأن التركيزات المتوسطة منه تسمح بالنمو ، في حين أن تركيزاته المنخفضة جداً تكون غير موافقة للنمو ، أو بمعنى آخر يمكننا أن نقول أن البيئات الشديدة الحموضة أو شديدة القلوية توقف نمو وتكاثر الخلايا البكتيرية . ان معظم البكتيريات تفضل لنموها البيئات القريبة من التعادل حيث يقرب تركيز ايون الايدروجين من ١٠ - ٧ . وإذا تساوى تركيز ايونات الايدروجين بالبيئة المتعادلة بالتركيز الموجود بداخل الخلايا فان كل خلية سوف تحتوى على عدد قليل من ايونات الايدروجين . والبيانات المدرجة بالجدول رقم ١٠ توضح التركيزات الدنيا والمثلى والقصى لتركيز ايونات الايدروجين لعديد من البكتيريات والفطريات ، ويشار عادة إلى تركيز ايونات الايدروجين بتقدير لوغاريتمى يطلق عليه الـ  $pH$   $\bar{pH} = pH$  — لوغاريتم تركيز ايون الايدروجين



(يد +) أي أن الـ pH =  $\frac{1}{[يد +]}$  . وان قيم الـ pH تعمل على

إظهار الاختلافات بين البكتيريا بدرجة أقل من الواقع وبفحص الجدول يمكننا أن نستخلص النقاط التالية :

١ - أن قيم الـ pH من ٤ - ٦ وهى على الجانب الحمضى وكذلك على الجانب القلوى تمثل حدود النطاق الذى يحدث خلاله نمو معظم البكتيريات . وأن الدرجة المثالية لنمو البكتيريات عموما تكون قريبة من قيمة  $pH \approx 7$  .

٢ - على الجانب الحمضى لا يمكن للبكتيريات ، فيما عدا قليل من الشواذ ، أن تنمو على درجة من الـ pH أقل من ٤ ، فى حين أن الخميرة والفطريات يمكنها أن تنمو على البيئات الزائدة الحموضة ، فبعض الفطريات يمكنها أن تنمو على درجة pH تصل إلى ٢ . ويؤيد ذلك ما يمكن ملاحظته بالمعمل فى أن بعض الفطريات الناقصة قد تنمو بالزجاجات المحتوية على بعض الأحماض .

ومن البكتيريات الشاذة التى يمكنها تحمل الحموضة الزائدة البكتيريا التابعة لجنس *Acetobacter* والمنتجة لحمض الخليك والبكتيريا التى تعيش فى معدات الحيوانات الثديية مثل *Zymosarcina verntriculi* حيث تصل قيمة الـ pH تحت هذه الظروف إلى الوحدة ، وكذلك البكتيريا التى تؤكسد الكبريت إلى حمض كبريتيك والمعروفة باسم *Thiobacillus thiooxidans* .

جدول رقم ١٠ : نطاق انـ pH ودرجته المثلى اللازمة لنمو بعض  
البكتيريا والفطريات

الدرجة القصوى	الدرجة المثلى	الدرجة الدنيا	الكائن
بكتيريا كروية :			
٨,٣	٧,٨	٧	<i>Streptococcus penumonia. (P)</i>
٩,٢	٧,٨	٤,٥	<i>Streptococcus pyo genes (P)</i>
٨	٧ — ٦,٢	٥,٥	<i>Streptococcus liquefaciens.</i>
بكتيريا عصوية :			
٩,٥	٧ — ٦	٤,٣	<i>Escherichia coli</i>
٩	٦	٤,٤	<i>Aerobacter aerogenes.</i>
٩,٦	٧,٢ — ٦,٢	٤	<i>Salmonella paratyphosumi (P)</i>
٩,٦	٧,٢ — ٦,٨	٤	<i>Salmonella typhosa (P)</i>
٩,٦	٧	٤,٥	<i>Shigella dysenterie (P)</i>
٨,٤	٨,٢ — ٦,٦	٦,٣	<i>Brucella melitensis.. (P)</i>
٩,٣		٤,٦	<i>Erwinia carotovora.</i>
٩,٢	٦,٥	٤,٤	<i>Proteus vulgaris</i>
٩,٢		٥,٧	<i>Agrobacterium tumefaciens.</i>
٩,٨	٤ — ٢	١	<i>Thiobacillus thiooxidans.</i>
١٠,٢	٩,٢ — ٨,٤	٥,٧	<i>Nitrobacter.</i>
٩,٤	٨,٨ — ٨,٥	٦,٧	<i>Nitrosomonas</i>
٨,٥	٩	٥,٤	<i>Streptomyces scabies</i>
١١ — ١٠		٥ — ٣,٢	<i>Rhizobium luguminosarum (5 strains)</i>
٨,٥	٧,٥ — ٦	٤,٥	<i>Bacillus subtilis</i>
٨,٥	٧,٤ — ٧	٦	<i>Bac. anthracis.</i>
	٧,٦ — ٧,٤	٥,٨	<i>Azotobacter chroococcum</i>
٨,٤	٧,٧ — ٦,٨	٥	<i>Mycob. tuberculosis (P)</i>

تابع جدول رقم ١٠

الدرجة القصوى	الدرجة المثلى	الدرجة الدنيا	الكائن
			فطريات :
	٥ — ٤	٢,٤	<i>Sacch. cerevaseae</i>
٩,٢		٣,٢	<i>Mucar glomerula</i>
٩,٣		١,٦	<i>Asperqittus oryzae</i>
٩,٣		١,٩	<i>Peneclltium italicum</i>
١١,١		١,٦	<i>Pen, variable</i>
١١,١		١,٨	<i>Fusarium oxysporum</i>
٧,٥	٤,١ — ٣,٦	٣,٠	<i>Phycomyces blakesleeanus</i>

٣ — من الملاحظ أن البكتيريات الممرضة للإنسان والحيوان والمشار لها بالجدول بحرف (P) تحتاج إلى مجال من قيمة الـ pH أضيق من البكتيريات غير الممرضة وأن الدرجة المثالية من الـ pH اللازمة لنموها تتراوح بين ٧,٢ — ٧,٤ .

٤ — أن البكتيريات الممرضة التي تعيش بالقناة الهضمية مثل مجموعة القولون coli-typhoid - dysentery groud تتحمل درجات من الحموضة أعلى منها في حالة الطفيليات التي تنمو في دم أو في أنسجة العائل مثل بعض البكتيريات الكروية الممرضة أو أنواع *Brucella* أو *Bac. anthracis* .

٥ — الكائنات التي تعيش بالتربة تتحمل درجات أعلى من القلوية لذلك فإن درجة الـ pH المثلى لبكتيريا التآزت تقع على الجانب القلوى ، كما أن بكتيريا العقد الجذرية *Rhizobium* تتحمل درجات مرتفعة من القلوية

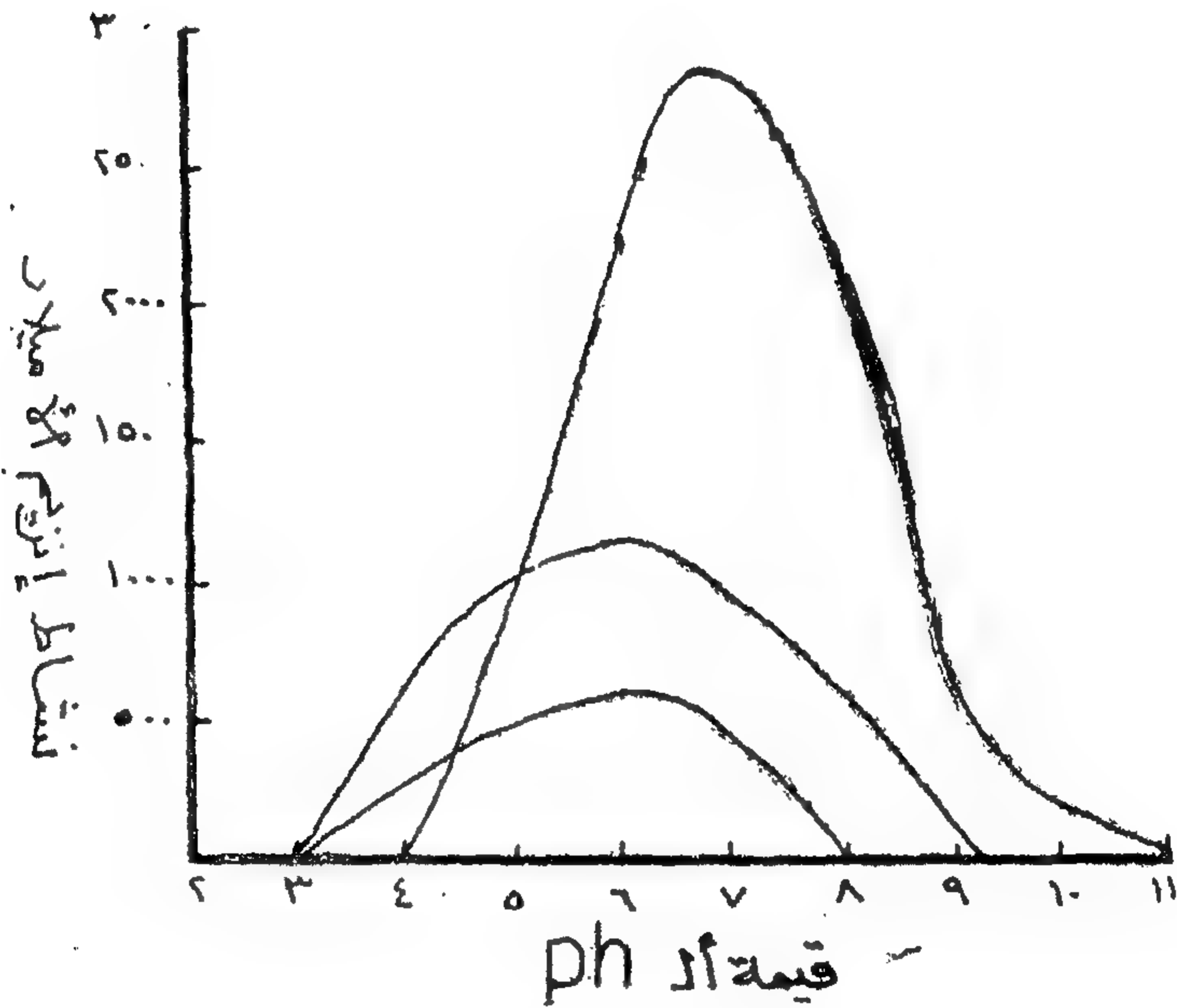
٦ — الاكتينومييسيتات لا تتحمل الحموضة وأن لبعضها درجة pH مثلى تقرب من ٨,٥ (على الجانب القلوى) .

وعند تنمية البكتيريا في بيئة ذات درجة متعادلة من الـ pH (٧) فإن مهاجمة الخلايا البكتيرية لمختلف مواد البيئة ينتج عنه أحماض أو قلويات تغير من قيمة pH البيئة ، وأن وجود هذه المواد بالبيئة قد يحدد من نمو البكتيريا أو يوقفه كلية ، لذلك يفضل خلط البيئات الغذائية عند تجهيزها ببعض المواد التي تعرف بالمواد المنظمة Buffers . وهذه المواد لها قدرة على معادلة التغيرات في قيمة الـ pH والتي تحدث بالبيئة أثناء النمو . ففي مزارع البكتيريا التي تنتج أحماضا بدرجة ملحوظة يستحسن إضافة مادة قلوية غير قابلة للذوبان مثل كربونات الكالسيوم أو كربونات المغنسيوم إلى البيئة . أما في حالة البكتيريا التي ينتج عن نموها مواد قلوية بالبيئة مثل تلك التي تختزل الكبريتات ، أو النترات فإنه لا يسهل التخلص من تأثيرها القلوى بالمزرعة . وعادة يضاف مادة فوسفات احادى البوتاسيوم بوريدم فوا ، أو فوسفات ثنائى البوتاسيوم بوم يدفوا ، كل بمفرده أو خليط منها إلى البيئات الغذائية المعدة لتنمية البكتيريا لغرض تنظيم قيمة الـ pH أثناء نمو البكتيريا المختلفة بها . هذا وبعض المكونات الاساسية في البيئات الغذائية مثل مادة الببتون يكون لها قدرة محدودة على تنظيم تفاعل البيئة علاوة على دورها الغذائى المعروف .

ويجب أن نعلم ، كما سبق أن بينا ، أن درجة تنظيم قيمة الـ pH بالبيئة الغذائية يتوقف كثيرا على الغرض الدراسى الذى تحضر من أجله المزرعة كما أنها تكون محدودة أيضا بما قد يتوفر للباحث من مواد منظمة .

ان تأثيرات قيمة pH البيئة على نمو البكتيريا والتفاعلات الأيضية الخلوية كثيرة ومتشعبة وليس هنا المجال لسردها جميعا إلا أنه يجب أن نبين أنه على الدرجات المنخفضة جدا أو المرتفعة جدا من قيمة الـ pH قد يحدث فساد للبروتين الانزيمى نتيجة لتخثره coagulation ، تماما كما يحدث له عند ارتفاع درجة الحرارة . ويجب أن نعلم أن نشاط كل نظام انزيمى معين بالخلية له نطاق من قيم الـ pH يعمل في حدوده كما يكون لنشاطه درجة

مثلى تقع فى منتصف هذا النطاق ، وأن أى انحراف عن هذه الدرجة المثلى  
يؤدى إلى الابطاء من نشاط الانزيم وينعكس هذا على معدل النمو ويبطئه .  
وعلاوة على ذلك قد يختلف أيضا مجال الـ pH وكذلك الدرجة المثلى منه  
للانزيم الواحد تبعا لنوع الخلايا المحتوية عليه ، وبين (شكل ٧١) هذه  
الاختلافات فى حالة انزيم الأميلاز amylase والمغزول من مصادر حيوية  
مختلفة .



شكل ٧١ : تأثير الدرجات من الـ pH على نشاط الانزيم اميلاز amylase المغزول من  
مصادر مختلفة .

أ - اميلاز مغزول من خلايا الفطر *Aspergillus oryzae*

ب - اميلاز مغزول من خلايا حبوب الشوفان انثابتة .

ج - اميلاز مغزول من خلايا بنكرياس .



## ٥ — الإشعاع Radiation

من المعروف أن بعض البكتيريات تتطلب وجود الضوء المرئي لكي تنمو وتتكاثر مستعملة الطاقة الضوئية ومحولة إياها إلى طاقة كيميائية عن طريق عملية التمثيل الضوئي ، وتتميز هذه البكتيريات بوجود مواد ملونة تشبه الكلوروفيل النباتي تعمل كمادة وسيطة في هذه التفاعلات . ومن المعروف أيضا أن بعض الإشعاعات مثل الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet والأشعة السينية X-rays تحدث تأثيرا ضاراً بالبكتيريات عموماً فقد أجريت دراسات عديدة ومتشعبة للتحقق من الطرق التي يمكن لهذه الإشعاعات أن تقتل بها الخلايا البكتيرية توطئة للتعرف على الطرق التي من شأنها إلقاء التأثير الضار لهذه الإشعاعات وغيرها من الكائنات الأخرى الأكثر رقياً بما فيها الإنسان ولا سيما إذا ما علمنا أن درجة التشابه في سلوك وحساسية الخلايا البكتيرية والخلايا الحيوانية للإشعاعات المختلفة قد تسمح بتطبيق النتائج المتحصل عليها عند دراسة التأثيرات على مستوى الخلية الواحدة .

ويعرف الإشعاع Radiation بأنه انبعاث emission وبث Propagation الطاقة خلال الفضاء أو خلال وسط مادي .

وفيما يلي بيان لأطوال الموجات لبعض الإشعاعات المختلفة :

نوع الإشعاع	طول الموجة بالأنجستروم ( Å )
الأشعة الكونية	Cosmic rays
أشعة جاما	Gamma rays
الأشعة السينية	X-Rays
الأشعة فوق البنفسجية	Ultraviolet
الطيف المرئي	Uisible specturm
الأشعة دون الحمراء	Infrared
موجات الراديو	Radio waves

ويلاحظ أن الإشعاعات ذات الموجات القصيرة عن الضوء المرئي يكون لها تأثيراً مميتاً للكائنات الحية الدقيقة فهي بذلك تستعمل في التعقيم دون أن ترفع من درجة حرارة المادة المعقمة وتعرف لذلك بطريقة التعقيم البارد cold sterilization ويمكن إستعمال هذه الطريقة في تعقيم المواد الحساسة للحرارة المرتفعة مثل بعض أنواع الأدوية .

والأشعة فوق البنفسجية تتراوح أطوال موجاتها بين ١٥٠ - ٣٩٠٠ أنجستروم وأن طول الموجات حوالى ٢٦٥٠ أنجستروم يكون أكثر تأثيراً على البكتيريا ، ويلاحظ أن ضوء الشمس يتكون جزئياً من أشعة فوق بنفسجية ولكن معظم الجزء الضار يمتص بواسطة الغلاف الجوى المحيط بالأرض مثل الأوزون Ozone والسحب والغيوم . وبذلك فالذى يصل منها لسطح الأرض يكون مركز في أطوال الموجات بين ٢٨٧٠ - ٣٩٠٠ أنجستروم . وعلى ذلك فإن ضوء الشمس الذى يصل لسطح الأرض يكون له تأثير ابادى ضعيف جداً على الكائنات الحية الدقيقة .

وتوجد صمامات مبيدة للميكروبات germicidal bulbs تعطى إشعاعات فوق بنفسجية (٢٦٠٠ - ٢٧٠٠ أنجستروم) تستعمل لتقليل التعداد الميكروبي في غرف العمليات وفي مصانع الأدوية وصناعات الألبان والمواد الغذائية وكذلك معاملة الأسطح الملوثة . ويلاحظ أن الإشعاعات فسوق البنفسجية لها قابلية قليلة في اختراق المواد وأن طبقة رقيقة من الزجاج تزيل كمية كبيرة منها .

ودرست الطريقة التى تؤثر بها mode of action الأشعة فسوق البنفسجية على الخلايا وكان يعتقد أن الإشعاعات تحدث تأيئنا لما تحتويه الخلايا من الماء ومن جزيئات الأكسجين التى تتواجد في منطقة مرور الأشعة في الخلية وأن ما ينتج من ايونات يتفاعل مع مكونات الخلية كما يلي :

- (١)  $\text{يد}_1 \leftarrow [ + \text{يد} ] + [ - \text{ايد} ]$
- (٢)  $\text{ا}_2 \leftarrow [ + \text{ا} ]$
- (٣)  $[ - \text{ايد} ] + [ + \text{ا} ] \leftarrow \text{يد}_1 \text{ا}_2$
- (٤)  $[ \text{يد}_1 \text{ا}_2 ] + [ + \text{يد} ] \leftarrow \text{يد}_2 \text{ا}_2$

وتفاعل نواتج تأين الماء (المعادلة رقم ١) ببعضها أو بنتائج تأين الأكسجين الجزيئي (المعادلة رقم ٢) غير معروف على وجه التأكيد ولكن يقترح أنه يتكون نتيجة لهذه التفاعلات أما المركب غير الثابت المعروف باسم هيدروبيروكسيل  $\text{hydroperoxyl radical}$  —  $\text{يد}_1 \text{ا}_2$  — (المعادلة رقم ٣) أو فوق أكسيد الأيدروجين  $\text{hydrogen peroxide}$  —  $\text{يد}_2 \text{ا}_2$  (المعادلة رقم ٤) .

وكان يظن إلى وقت قريب أن فوق أكسيد الأيدروجين هو المركب الوسيط الذى يتكون بالخلايا نتيجة للتعرض للإشعاعات ويعزى إليه التأثير الضار للخلايا ، إلا أن إضافة كميات صغيرة منه إلى بيئة نمو بعض البكتيريات (مساوية لتلك المحتمل تكونها بعد تعريض الخلايا لجرعة قوية من الإشعاعات) لم تؤد إلى موت خلاياها أو إحداث تأثيرات شبيهة بتلك التى تحدثها الإشعاعات لذلك ولأسباب أخرى لا يمكن اعتبار إنتاج  $\text{يد}_1 \text{ا}_2$  فى حد ذاته تفسير وافيا للفعل الضار للإشعاعات بالرغم من احتمال وجود مثل هذا الدور لبعض البيروكسيدات  $\text{peroxides}$  العضوية الأخرى . والتفسير الأكثر احتمالا هو أن وجود أيونات الهيدروبيروكسيل  $[\text{يد}_1 \text{ا}_2]$  وكذلك أيونات الهيدروكسيل  $(\text{ايد}^-)$  الحرة بالخلايا عقب تعريضها للإشعاع هو الذى يحدث التأثير السام والمميت للخلايا عن طريق أكسدة هذه الأيونات لجزيئات السيتوبلازم ، والأجسام النووية بالخلية .

وحاليا يعتقد أن الإشعاعات تحدث تأثيرا مباشرا  $\text{direct hit}$  لمناطق حساسة من الخلايا تعرف بالهدف الحساس  $\text{sensitive target}$  وأن

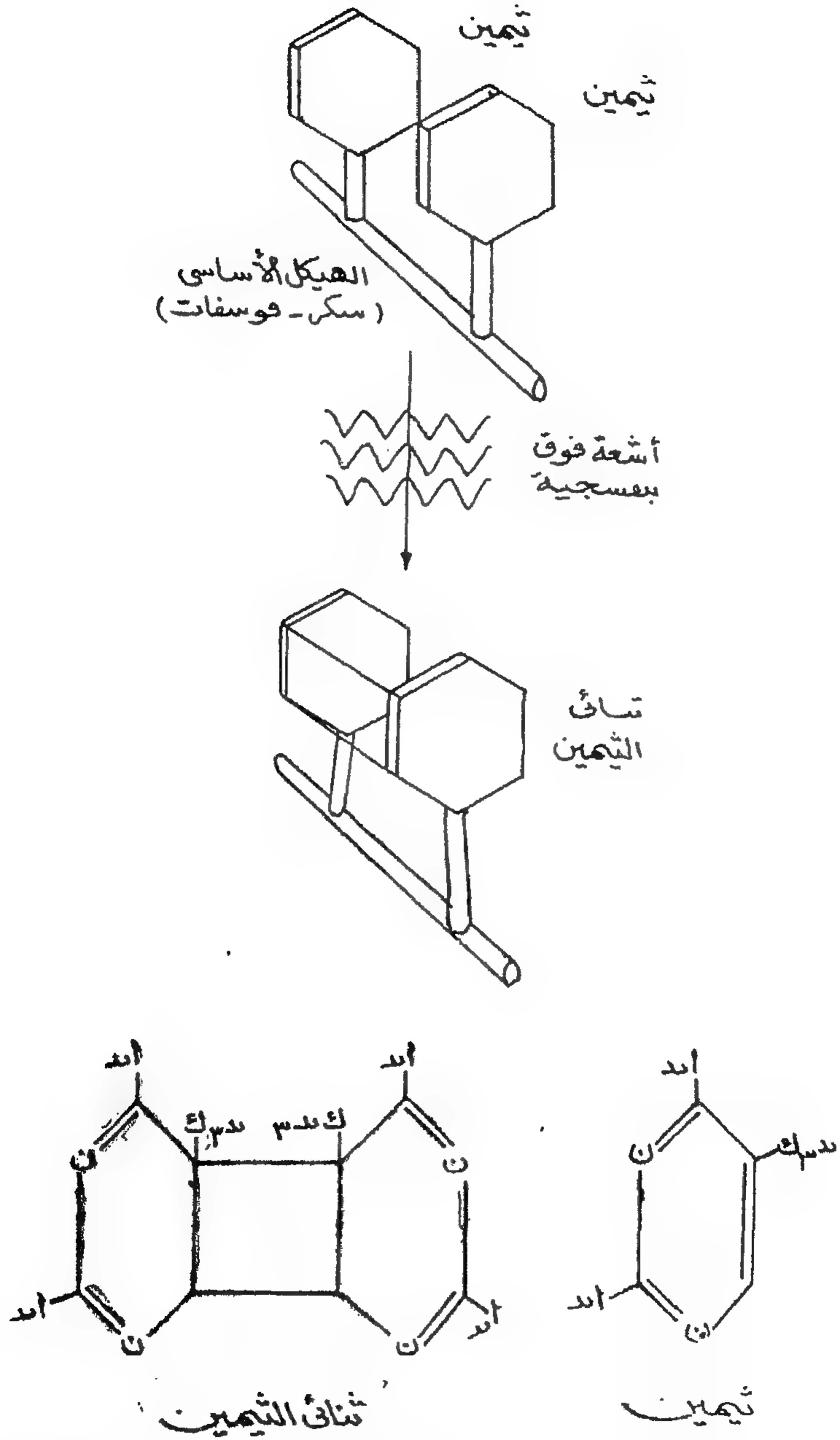
الطاقة الاشعاعية تمتص في هذه المناطق وبالتالي يتغير تركيبها الجزيئى . وتعتبر المحتويات النووية لهذه المناطق أكثرها تأثراً . إذا ما علمنا أن المحتويات النووية تكون ذات قدرة عالية لامتصاص الأشعة فوق البنفسجية عن غيرها من المحتويات الخلوية .

و ثبت أن الأشعة فوق البنفسجية تسبب تكوين روابط تعاونية Covalent bonds بين جزيئين متجاورين من Thymine على نفس شريط الـ DNA وبذلك تتكون روابط في داخل الشريط الواحد مما يؤدي إلى تكوين ثنائى الثمين Thymine dimer : ( شكل ٧٢ ) وأن هذه الروابط التعاونية تشوه شريط الـ DNA بدرجة تسبب اختلاف خواص الروابط الهيدروجينية للبيورينات والبيريميدينات بجوار هذا الـ Dimer ونتيجة لذلك فإنه قد تدخل بيورينات و بيريميدينات خاطئة في الشريط الجديد من الـ DNA الذى سيتكون على امتداد الشريط المتغير :

وتوجد ظاهرة تسمى التنشيط الضوئى Photoreactivation فإذا عرض معلق من خلايا بكتيرية إلى جرعة ضارة من اشعاع فوق بنفسجى ثم عرض بعد ذلك مباشرة إلى الضوء المرئى فان بعض الخلايا المثبطة ستشفى وتسمى هذه الظاهرة التنشيط الضوئى ، أى بطريقة أخرى :

- ١ — خلايا عرضت إلى أشعة فوق بنفسجية .
- ٢ — أخذت عينة من الخلايا وزرعت وحضنت في المعمل لتقدير عدد الخلايا الحية .
- ٣ — أخذت عينة أخرى وعرضت إلى الضوء المرئى وزرعت لتحديد الخلايا الحية .
- ٤ — يلاحظ أن عدد الخلايا الحية المقدرة في ٣ سيزيد عن عدد الخلايا المقدرة في ٢ .

ويلاحظ أن التنشيط الضوئى لا يصل إلى ١٠٠٪ .



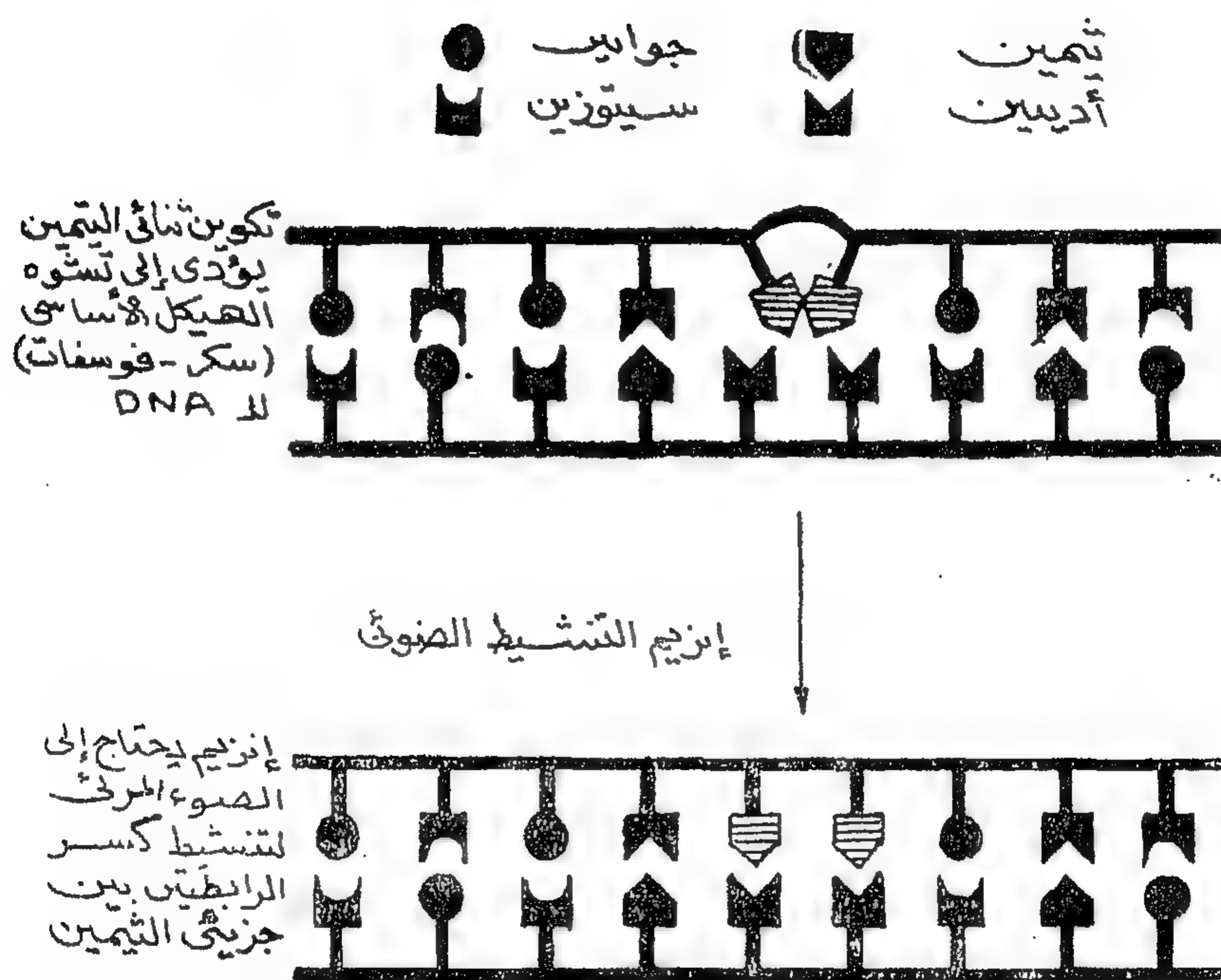
شكل ٧٢ : تكوين ثنائي الثيمين thymine - thymine dimer في الـ DNA نتيجة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية .



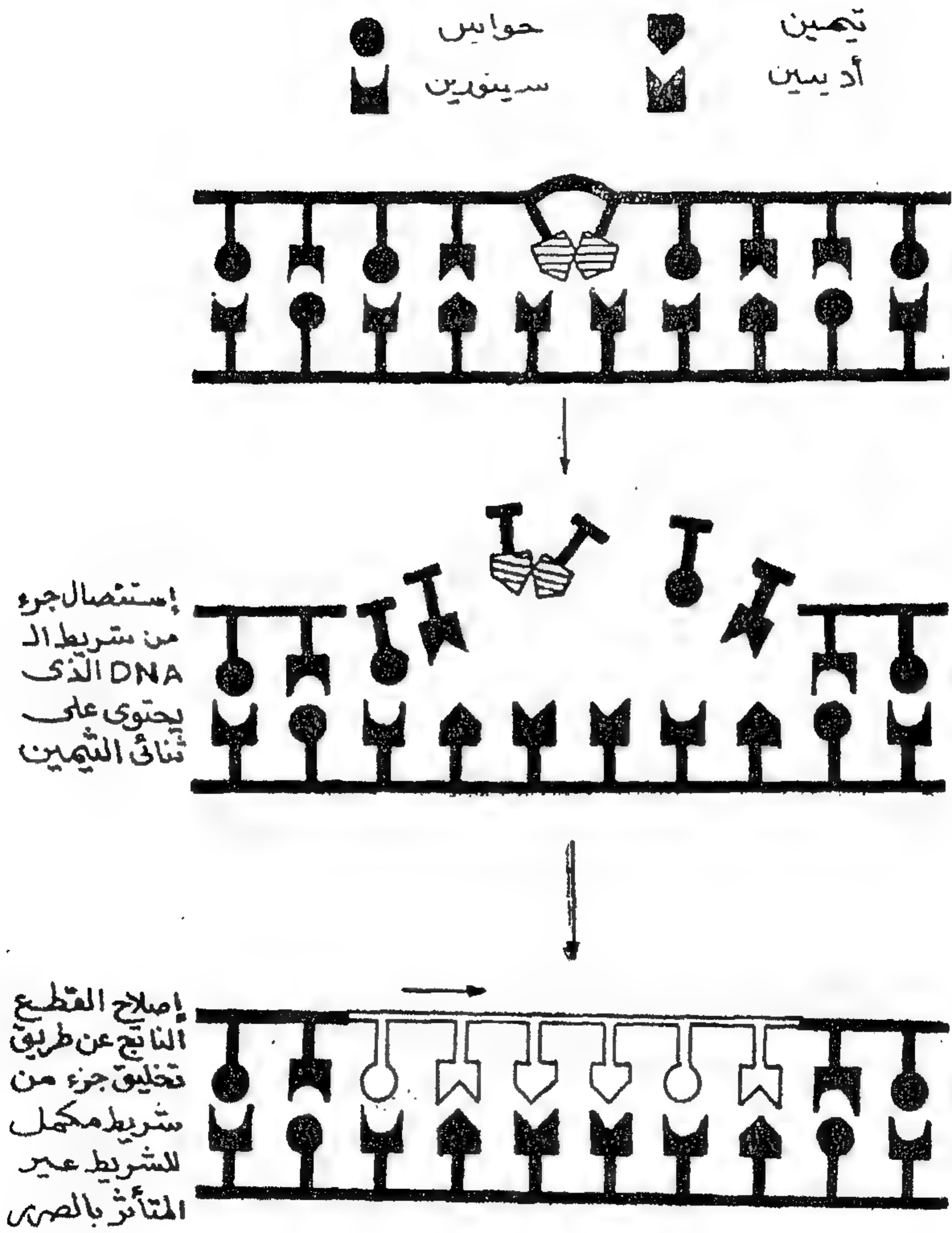
وتفسر هذه الظاهرة بأنه توجد في بعض أنواع البكتيريا انزيمات لإصلاح الضرر الذي تحدثه الأشعة فوق البنفسجية فيوجد انزيم قادر - في وجود الضوء - على تكسير الرابطة التعاونية التي تربط بين قاعدتي الثيمين وتسمى الاصلاح الضوئي Light repair (شكل ٧٣) .

بعض البكتيريا تمتلك انزيمات تقطع أو تستأصل الجزء من شريط الـ DNA المفرد الذي حدث له ضرر DNA. nuclease ، وانزيمات أخرى تصلح القطع الناتج عن طريق تخليق جزء من شريط مكمل للشريط غير المتأثر DNA Polymerase بالضرر . وحيث أن هذه الانزيمات لا تحتاج إلى الضوء لتؤدي عملها فتوصف هذه العملية باسم الاصلاح في الظلام Dark repair (شكل ٧٤) .

وأشعة X-Rays وهي ذات تأثير مميت على الكائنات الدقيقة ، ولها القدرة على التغلغل ولو أنها غير عملية لاستعمالها في مقاومة مجاميع الميكروبات ذلك لأنها عالية التكاليف ، ولكنها تستعمل بكثرة في مجال الميكروبيولوجي وذلك لانتاج طفرات ميكروبية Microbial mutations ، أما أشعة جاما Gamma Rays وهي اشعاعات ذات طاقة عالية تنبعث من بعض النظائر المشعة Radioactive isotopes مثل كوبالت ٦٠ . وهي تشبه أشعة X ولكن لها طول موجات أقصر ، ولها قدرة كبيرة على التغلغل خلال المواد وقاتلة للكائنات الدقيقة ولذلك يمكن استعمالها في تعقيم المواد مثل الأغذية. ويبدو أن الطريقة التي تؤثر بها Mode of action على الخلايا أنها تحدث Direct hit على بعض المواد في داخل أو بالقرب من الخلية محدثة تأين Ionization والذي يحدث موت الخلايا .



كل ٧٣ : الإصلاح الضوئي light repair لثنائي الثيمين thymine - thymine dimer  
في الـ DNA .



شكل ٧٤ : الإصلاح في الظلام Dark repair لثنائي الثيمين thymine - thymine dimer في ال DNA

## المراجع

- Allen, M.B. 1953. The thermophilic aerobic sporeforming bacteria. Bact. Rev., 17 : 125.
- Edward, O.F. and L.F. Rettger. 1937. The relation of aerobin respiratory enzymes to maximum growth temperature of bacteria. Jour Bacteriol 34 : 489.
- Gaughran, E. R. L. 1947 The thermophilic microorganisms. Bact. Rev., 11 : 189.
- Hollaender, A. 1952. Modification of irradiation effect on bacteria J. Bacteriol., 63 : 591, 805.
- Levy, J., J, J, R, Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology, John wiley and Sons INC. New York. 684 p.
- Marsland, D, 1951. The effect of hydrostatic pressure on cell division, Ann., N. Y, Acad. Sci., 51 : 1327.
- Mitchell, P. 1951. Physical factors affecting growth and death. in C. H. Werkman and P. W, Wilron (eds.) Bacterial physiology, Acad. Press. N. Y. 1951,
- Nester, E. W., C. E. Roberts, N. N. Pearsall, and B. J. Mc Carty. 1978. Microbiology. Holt. Rinehart and Winston New York. 769 p.
- Nichson, J. J. 1952. Symposium of radiobiology. John Wily and Sons, N.Y
- Perkins, J. J. 1956. Principles and methods of sterilization. Charles C. Thomas, Spring field 111.

- Rahn, O. 1945. Physical methods of sterilization of microorganism.  
“Bacteria” McGraw – Hill book company. Inc.
- Rahn, O. and W. R. Schoeder, 1941. Inactivation of enzymes as the  
cause of death in bacteria. *Biodynamica*, 3 ; 199.
- Rahn, O. 1932. Physiology of Bacteria. McGraw - Hill book company
- Robinsn, J. N. Gibbons, F, Thacher. 1952 Mechanism of halophism  
in *Micrococcus halodeitricans* J. Bacteriol. 64 ; 69.
- zobell, C. E. and C. H. Oppenheimer, 1950. Some effects of hydro-  
static pressure on the mulliplication and morphology of  
bacteria J. Bacteriol. 60 ; 771.



## الفصل الرابع

### تأثير العوامل الكيماوية على نمو وتكاثر البكتيريا

سبق أن بينا أن المزارع البكتيرية النقية التي تجهز بالمعمل لا يمكنها أن تستمر في النمو إلى مالا نهاية بالرغم من توفر الظروف الفيزيائية المناسبة لنموها. ويرجع ذلك إلى نفاذ المواد الغذائية في البيئة المحدودة التي تنمو عليها وإلى تكاثر نواتج النمو السامة بالمزرعة. ويحدث هذا أيضا في الطبيعة حيث يتأثر النوع البكتيري بالمواد الكيماوية الناتجة من نمو غيره من الكائنات في البيئة المختلطة النامي بها. وتعمل الطبيعة بطرقها المختلفة على إحداث توازن لتنظيم سيادة الأنواع المختلفة في بيئاتها الطبيعية. ومن الطرق الرئيسية التي تؤثر على هذا التوازن الطبيعي تفشي ظاهرة التطفل parasitism والتي يعيش فيها كائن حي يعرف بالطفيل parasite معتمدا على كائن حي آخر يعرف بالعائل host. ليستمد منه الغذاء اللازم لنموه وليجد في أنسجته المكان المناسب لنموه وتكاثره، والكائن الذي يعيش معتمدا على غيره من الكائنات بدون أن يحدث له ضررا واضحا يعرف باسم المرافق commensal وتعرف الظاهرة باسم الاضطحاب commensalism. في حين أن ظاهرة التطفل تكون نتيجتها حدوث ضرر للعائل وإذا زاد الضرر فهي تؤدي إلى موت العائل. والكائنات المتطفلة هذه يطلق عليها اسم الكائنات الممرضة pathogens فبعضها يكون ممرضا للنباتات والبعض الآخر يكون ممرضا للحيوان والانسان.

وقد بدأ الانسان منذ زمن بعيد في التحكم في بيئته الحيوية، والكيماوية، وفي الظروف الفيزيائية المحيطة به، وتوجيهها بالطرق التي تتفق مع مصلحته وسلامته ورفاهيته. فقد تمكن الانسان من التحكم في بيئته البيولوجية حيث قام باستئناس الحيوانات النافعة، وزراعة المحاصيل المفيدة إلا أنه لازال معرضا للأصابة بكثير من الأمراض التي تفتك به مثل الطاعون، والملاريا، والتيفود

والدوستاريا ، والبلهارسيا ، وغيرها من الأمراض الميكروبية . لذلك بدأ الانسان في التفكير في كيفية مقاومة الكائنات التي تسبب له هذه الأمراض كما تشعبت دراسته إلى التفكير أيضا في مقاومة الكائنات التي تصيب حيواناته النافعة ، ومحاصيله الزراعية محدثة لها أمراضا مختلفة .

وبتجربة عدد كبير من المواد الكيماوية توصل الانسان إلى التعرف على عدد قليل منها تستعمل كمواد علاجية therapeutic agents تقتل مسببات المرضية وهي داخل أنسجة العائل . وحيث أن هناك تشابها في العمليات الايضية المختلفة بين الخلايا البكتيرية والخلايا الحيوانية يمكننا أن نتفهم السبب في القلة الملحوظة في عدد المواد الكيماوية العلاجية chemotherapeutic agents المستعملة والتي اختيرت من الآلاف العديدة الأخرى من المواد الكيماوية المختبرة والتي يؤثر غالبيتها على كل من الخلايا البكتيرية والخلايا الحيوانية والتي لا يمكن استعمالها في الأغراض العلاجية . والمواد الكيماوية التي لا يمكن استعمالها في علاج الأمراض الميكروبية داخلها في جسم العائل أمكن استعمالها لقتل الكائنات الممرضة خارجيا . هذا وعدد هذا النوع من المواد كبيرا نسبيا .

وسوف نتناول مناقشتنا في هذا الفصل كيفية تأثير الخلايا البكتيرية بالمواد الكيماوية المختلفة سواء منها ما كان يستعمل داخليا في علاج الأمراض أو في أغراض التطهير أو التعقيم الخارجى .

ان درجة تأثير الخلايا البكتيرية بالمادة الكيماوية السامة تتوقف على عدة عوامل أساسية منها درجة تركيز المادة الكيماوية ، ونوع البكتيريا وتعدادها ، وطول فترة تعرضها للمادة الكيماوية . وهناك عوامل ثانوية يمكنها أيضا أن تؤثر على درجة مقاومة الخلايا للفعل السام للمواد الكيماوية أهمها قيمة الـ pH ، ودرجة الحرارة ، ووجود المواد العضوية بالبيئة .

سبق أن عرفنا الخلية الحية بأنها تلك القادرة على التكاثر ، والخلية البكتيرية

التي يمكنها أن تنجو من التأثير السام للمادة الكيماوية هي اذن تلك التي تكون قادرة على التكاثري في وجود المادة . وأحيانا لا تتكاثر الخلايا في وجود المادة الكيماوية ولكنها قد تواصل نموها وانقسامها إذا ما أبعدت عن تأثير المادة الكيماوية ، والمواد الكيماوية التي تمنع نمو وتكاثر البكتيريات عندما تكون ملاصقة لها باسم المواد الموقفة للنمو bacteriostatic ، أما المواد الكيماوية التي يمكنها إحداث تأثير ضار ودائم للخلايا البكتيرية بمعنى أنها توقف انقسام الخلايا بصفة دائمة تعرف باسم المواد المبيدة bactericidal . ولما كانت معظم الدراسات في هذا المجال تمت على البكتيريات الممرضة لذلك كان يطلق اسم المطهرات antiseptic على المواد الكيماوية الموقفة للنمو واسم disinfectant على المواد المبيدة للبكتيريات إلا أن هذه التسميات لم تعد تستعمل الآن .

ومن المهم أن نذكر أن التأثير المبيد والتأثير الموقف للنمو بصفة مؤقتة يعتمد كثيرا على تركيز المادة الكيماوية ، بمعنى أن مادة واحدة قد يكون تأثيرها موقفا للنمو فقط عندما تكون على تركيزات منخفضة في حين أنها تحدث تأثيرا مبيدا لنفس البكتيريا عندما يزيد تركيزها عن حد معين ، إذن فلكل مادة كيماوية نطاق من التركيزات يتراوح بين التركيز غير الضار (عندما تكون على تركيزات منخفضة جدا) ، والتركيز المبيد أو المميت ويقع بينهما التركيز الموقف للنمو . وهناك بعض المواد الكيماوية السامة قد يكون لها تأثير منشط للنمو في حدود ضيقة من التركيزات المنخفضة وغالبا ما يقع هذا التركيز المنشط للنمو من هذه المواد بين تركيزها غير الفعال ineffective وتركيزها الموقف للنمو والسبب في حدوث ظاهرة التنشيط هذه لازال غير مفهوم ، وهناك بعض سلالات من البكتيريا *E. coli* تكون حساسة لتأثير المضاد الحيوي streptomycin كما يوجد سلالات أخرى تقاوم فعل التركيزات المرتفعة من هذا المضاد الحيوي هذا وتوجد منها سلالات لا يمكنها النمو في غياب تركيزات معينة من هذا المضاد الحيوي وهذه السلالات الأخيرة تعرف بالسلالات المعتمدة على

الاستربتوميسين streptomycin dependent ويعمل ذلك بأن هذه السلالات تفضل هذا المضاد الحيوى كمصدر للكربون اللازم لنموها .

طرق تقدير التأثير السام للمواد الكيماوية :

لدراسة التأثير السام للمواد الكيماوية يمكن اتباع الطرق الآتية :

أولا : طرق تستعمل فيها البيئات الغذائية السائلة :

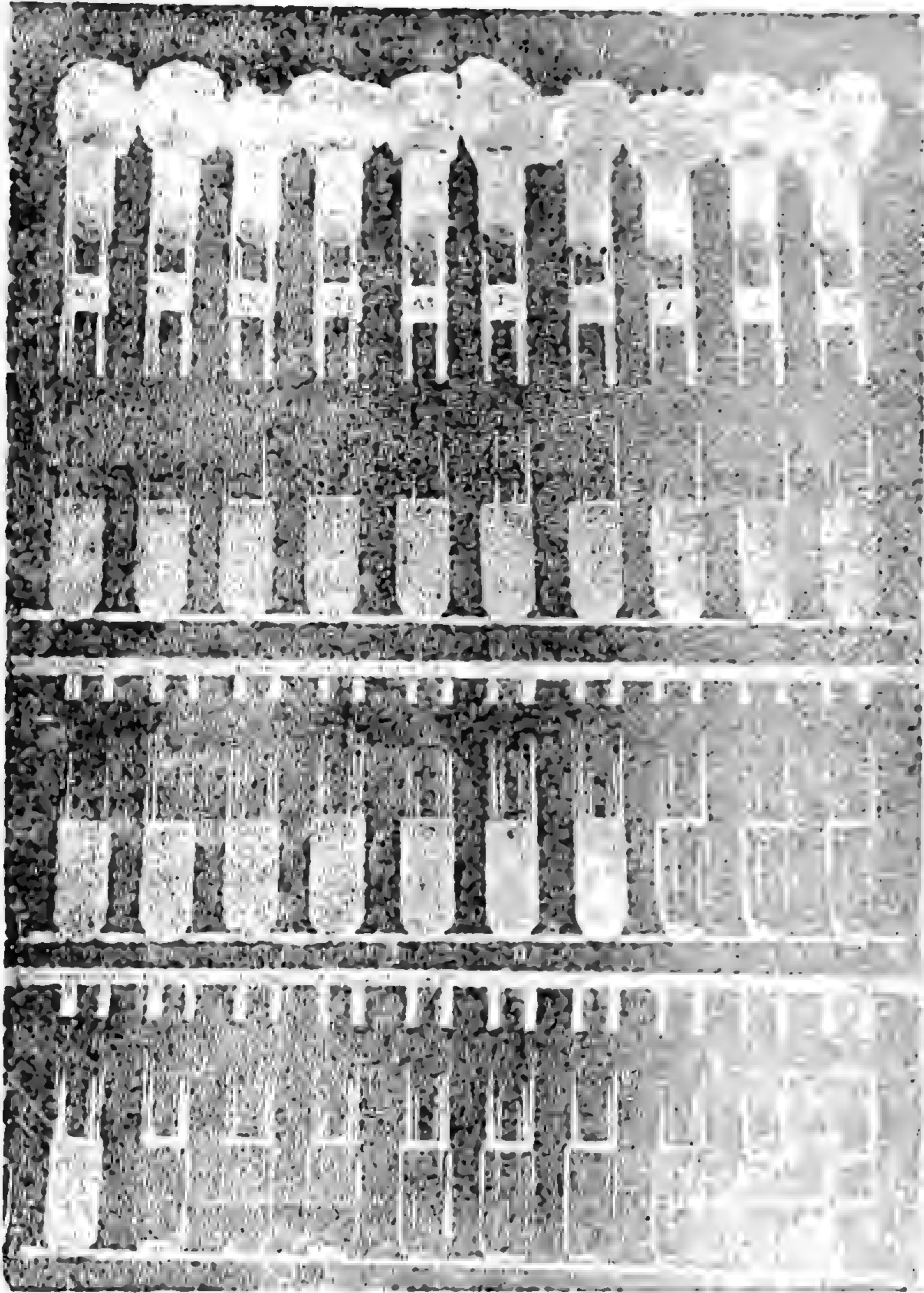
١ — تضاف المادة الكيماوية إلى البيئة المعقمة بالتركيز المطلوب ثم تلقح بالميكروب المراد اختبار حساسيته ثم تؤخذ عينات دورية على فترات منتظمة من هذه المزارع لاختبار حيويتها ، وذلك بزرعها في بيئات غذائية خالية من المواد الكيماوية ، ويمكن بهذه الطريقة معرفة ما إذا كانت المادة موقفة للنمو أو مبيدة للخلايا على الفترات المختلفة من الحضانة .

٢ — تضاف المادة الكيماوية إلى البيئة المعقمة بالتركيز المطلوب ويحدد الوقت الذى تعرض فيه البكتيريا لفعل المادة الكيماوية . ثم ينقل لقاح منها إلى بيئة خالية من المادة السامة في نهاية فترة الحضانة . وتؤدي هذه الطريقة إلى معرفة طبيعة المادة السامة (موقفة للنمو أم مبيدة) .

وعادة تستعمل الطريقتان المذكورتان في تحديد تأثير المضادات الحيوية أو المواد العضوية التى تضاد فعل المواد الكيماوية antimetabolites كالأحماض الأمينية والفيتامينات .

٣ — تضاف تركيزات متزايدة من المضاد الحيوى أو المادة الكيماوية السامة في سلسلة من الأنابيب المحتوية على بيئة سائلة ملقحة بكميات لقاح موحدة وتعرف هذه الطريقة باسم طريقة التخفيف فى الأنابيب tube dilution method ثم يقدر النمو بكل أنبوبة (كل تركيز) باستعمال طرق تقدير درجة التعكير إما كيميا أو نوعيا . وبهذه الطريقة يمكن معرفة المجال من التركيز الذى يشمل أقل





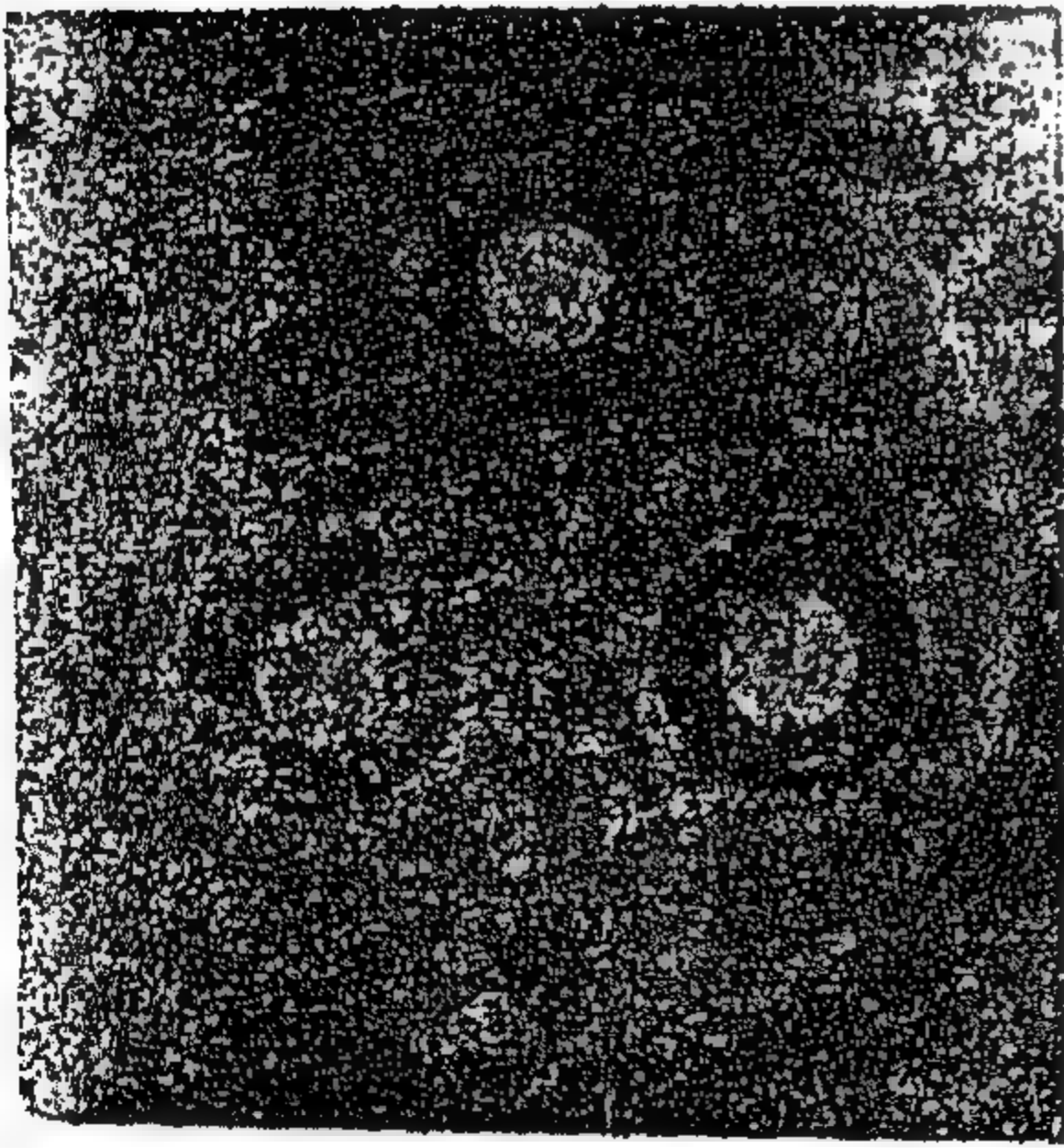
شكل ٧٥ : طريقة التخفيف المتسلسل بالأنابيب tube-dilution method لأختبار تأثير التركيزات المختلفة من المواد الكيماوية على نمو البكتيريا . ولتقدير المجال من التركيز الذي يقع فيه التركيز الموقوف للنمو . الصورة العليا سلسلة من تركيزات (صفر - ١٦٪) من مادة غير فعالة . الصورة الوسطى لمادة فعالة يقع تركيزها الموقوف للنمو بين تركيز (٢-٤٪) ، والصورة السفلى لمادة أكثر فاعلية يقع تركيزها الموقوف للنمو بين (صفر-٠,٦٪) . إن تأثير تركيزات المواد الثلاث درست باستعمال سلالة بكتيرية واحدة .



تركيز من المادة الكيماوية يمكن أن يوقف نمو البكتيريا المختبرة لا *minimal inhibitor concentration range* ويقع هذا المجال عادة بين تركيز الأنبوبة التي لم يحدث بها نمو اطلاقاً وتركيز الأنبوبة المجاورة لها في اتجاه تناقص التركيز والتي حدث بها نمو واضح (شكل ٧٥).

ثانياً — طرق تستعمل فيها البيئات الصلبة :

١ — تضاف المادة الكيماوية بالتركيز المطلوب لبيئة الآجار وهي مسالة (٤٥°م) وتمزج بها جيداً ثم تصب بأطباق بترى وتترك لتتصلب ثم يلقح سطحها بالميكروب المختبر . كما يمكن تلقيح أكثر من نوع بكتيري واحد كل في منطقة خاصة بالطبق . وبعد فترة حضانة مناسبة ، يفحص النمو الناتج على سطح الآجار .



شكل ٧٦ : طريقة أقراص ورق الترشيح

*ensitivity filter paper disc method*

لأختبار تأثير التركيزات المختلفة من مادة السيثرينومايسين على نمو البكتيريا *E.amylovora* لاحظ درجة إتساع المناء في الحالة

من النمو حول كل قرص .

٢ — طريقة أقراص ورق الترشيح

*Filter paper disc method* تصب

بيئة الآجار المناسبة والحالية من المادة

الكيماوية السامة بعد تلقيحها بالبكتيريا

المراد اختبار حساسيتها في أطباق بترى

معقمة وتترك المزرعة لتتصلب . ثم يوضع

على سطح الآجار المتصلب عدد من

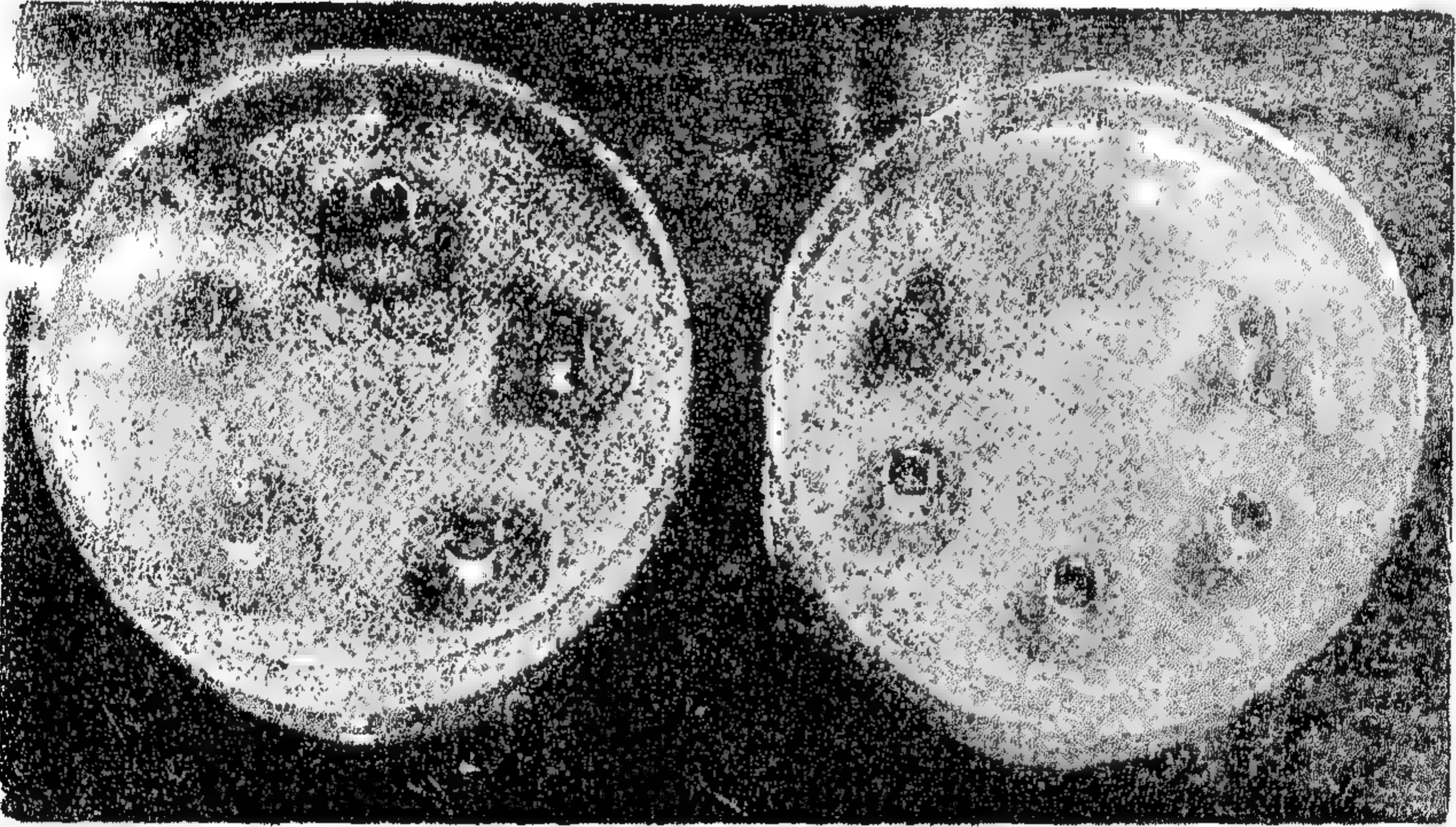
أقراص أوراق الترشيح محملة بتركيزات

معلومة من المضادات الحيوية أو المواد

الكيماوية السامة الأخرى . ثم تفرخ على

درجة الحرارة الملائمة ، (شكل ٧٦) .

٣ - طريقة الاسطوانات Cylinder plate method : تصب نصف كمية بيئة الآجار المناسبة والحالية من المادة الكيماوية ومن اللقاح في أطباق بترى معقمة وتترك لتتصلب ، ثم يوضع على سطح الآجار المتصلب عدد من الاسطوانات المعدنية القصيرة والتي تعرف باسم Oxford Penicillin cylinders ثم يصب النصف الآخر من كمية الآجار بعد تلقيحه بالبكتيريا المراد دراسة حساسيتها ، وتترك لتتصلب فتثبت الاسطوانات الصغيرة بالبيئة . يوضع بكل اسطوانة كمية تتراوح بين ٢٥ - ٥٠ مل من محلول المضاد الحيوى أو المادة الكيماوية بالتركيز المرغوب . ثم توضع الأطباق بالحضان على درجة الحرارة المطلوبة (شكل ٧٧) .

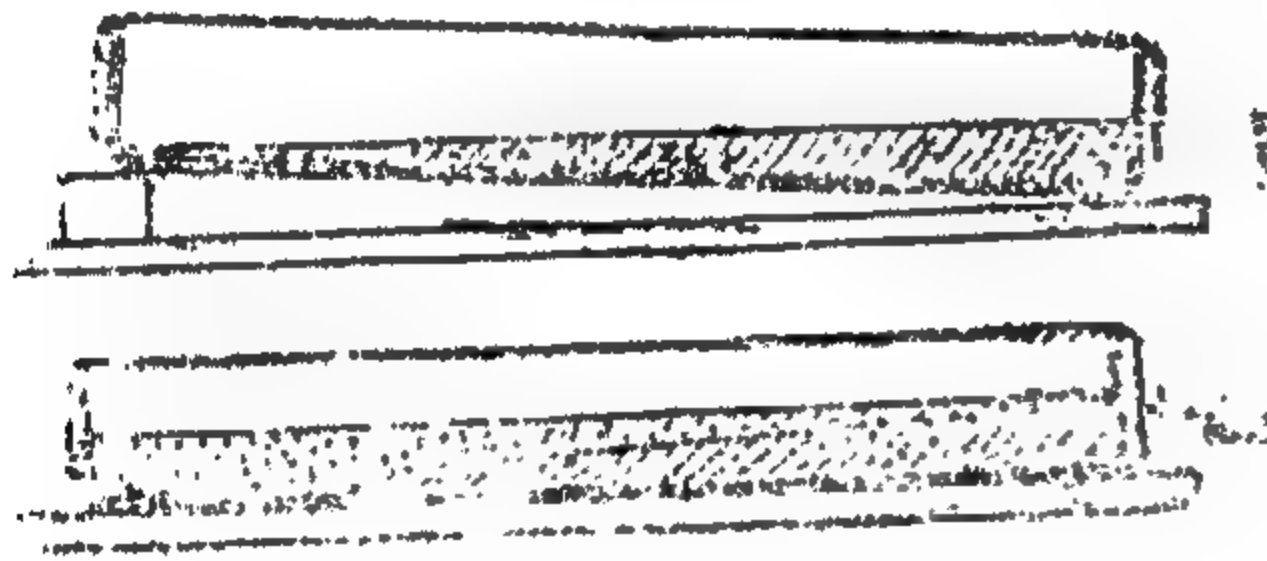


شكل ٧٧ : طريقة الاسطوانات Penicillin Oxford cylinder method لاختبار تأثير المواد الكيماوية (بتركيزات مختلفة على نمو البكتيريا) لاحظ درجة اتساع المناطق الحالية من النمو حول كل اسطوانة .

والفكرة الأساسية في الطريقتين الأخيرتين (٢ ، ٣) مبنية على أساس قدرة المضاد الحيوى أو المادة الكيماوية السامة الذائبة على الانتشار من قرص ورقة الترشيح أو من الاسطوانات القصيرة إلى البيئة المحيطة في تركيزات

متناقضة كلما بعدت عن القرص أو الاسطوانة . ونتيجة لذلك فإن البكتيريا تنمو متباعدة عن التركيزات السامة لها . تاركة منطقة دائرية خالية من النمو zone of inhibition . فعند قياس قطر أو نصف قطر هذه المنطقة يمكن أخذ فكرة عن مدى حساسية البكتيريا للمادة الكيماوية المستعملة ، وتتميز هذه الطرق بإمكان اختبار تأثير أكثر من مادة على درجة موحدة من التركيز وفي هذه الحالة يجب توحيد كل الظروف ( كمية المحلول بالاسطوانة ، عمق الاسطوانة بالبيئة ، كمية وتركيز المادة بالقرص ) . كما أنه يمكن استعمال الاختبار التركيزات المختلفة من المادة الواحدة في طبق بترى واحد .

٤ — طريقة الطبق المتدرج Gradient plate method : تصب نصف كمية الآجار المسال بعد خلطها بالتركيز المرغوب من المادة الكيماوية وترك لتتصلب بالطبق وهو في وضع مائل (يوضع أحد جانبي الطبق على قطعة من الخشب بحيث يكون هذا الجانب مرتفعا عن الجانب الآخر أثناء تصلب الآجار شكل ٧٨) . يلحق النصف الآخر من بيئة الآجار المسالة (٥٤م) بالبكتيريا المراد اختبار حساسيتها ثم تصب بنفس الطبق وترك لتتصلب والطبق في وضع



شكل ٧٨ : طريقة الطبق المتدرج Gradient plate technique. لاختبار

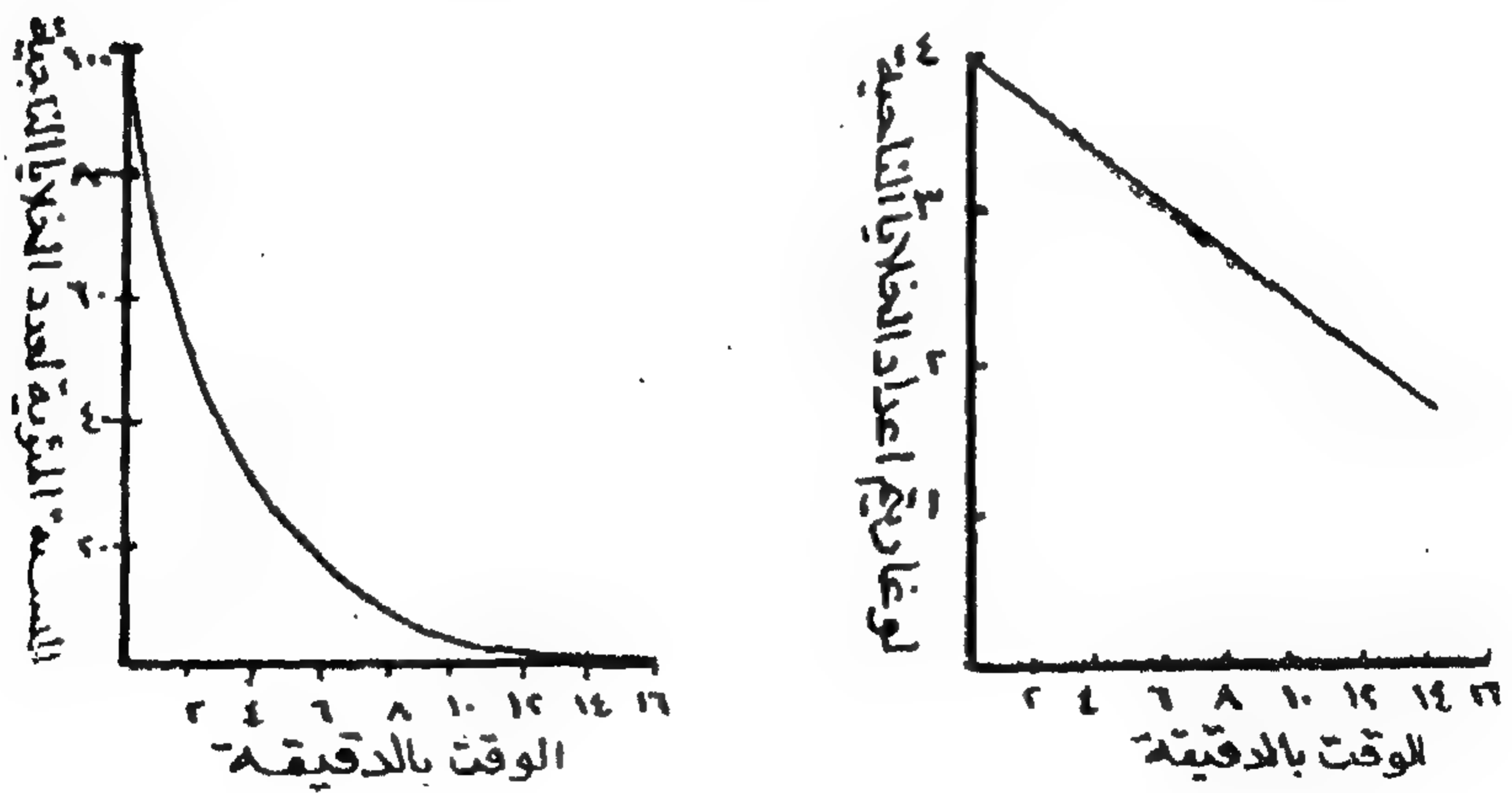
تأثير المواد الكيماوية على نمو البكتيريا ولغرض عزل طفرات مقاومة للتركيزات المرتفعة منها (١) طبق به بيئة غذائية محتوية على تركيز مرتفع من المادة الكيماوية السامة ويترك ليتصلب في وضع مائل . (ب) نفس الطبق بعد صب كمية مساوية من البيئة الحالية من المادة الكيماوية والذي يترك ليتصلب في وضع أفقي .

افقى تماما ، وحيث أن المادة الكيماوية سوف تنتشر من طبقة الآجار السفلى إلى الطبقة العليا الحالية منها فإن درجة الانتشار سوف تتوقف على سمك طبقة الآجار التي تعلوها لذلك فإن تركيز المادة الكيماوية سوف يكون متدرجا بالطبق (شكل ٧٨) وتستعمل هذه الطريقة أيضا لعزل الطفرات المقاومة للتركيزات المرتفعة للمواد الكيماوية أو المضادات الحيوية كما سيذكر فيما بعد .



وعموماً فإن الطرق التي تستعمل فيها البيئات الصلبة لا يمكن عن طريقها التمييز بين التأثير المميت والتأثير الموقوف للنمو . اللهم الا إذا حاولنا أخذ لقاح من سطح الآجار في المناطق الخالية من النمو والمجاورة لتأثير المادة الكيماوية وزرع هذا اللقاح في بيئة خالية من المادة الكيماوية السامة . وبالرغم من هذا فهي طرق مفيدة جداً لتقدير كفاءة المواد الكيماوية العلاجية الموقفة لنمو البكتيريات ، حيث يفضل استعمالها في مقاومة البكتيريات الممرضة بداخل جسم المصاب ، ويترك لطرق الجسم الدفاعية مسئولية التخلص من البكتيريات المتوقفة عن النمو والتكاثر نتيجة لفعل المادة الكيماوية المستعملة في العلاج الداخلي إلا أن بعض المواد السامة لا تؤدي فعلها الضار للبكتيريات المتوقفة عن النمو بل تؤثر فقط على البكتيريات النشطة والمنقسمة مثل المضاد الحيوي penicillin وأن مثل هذا التأثير لا يمكن ملاحظته إلا إذا كانت المادة الكيماوية على اتصال وثيق بالخلايا .

ويمكن بسهولة تقدير عدد الخلايا الناجية بعد المعاملة الكيماوية أو تقدير عدد الخلايا التي تموت أثناء وحدة زمنية من التعرض للمادة الكيماوية . وشكل ٧٩



شكل ٧٩ : معدل موت جراثيم البكتيريا *Bacillus anthracis* في محلول ٥,٠٪ كلوريد زئبق ا - منحني النسبة المئوية لأعداد الخلايا الناجية . ب - منحني اللوغاريتمات أعداد الخلايا الناجية (لاحظ ان المنحنى يظهر كخط مستقيم)

يبين المنحنى عندما يجرى باستعمال الاعداد الفعلية للخلايا الناجية بالمقارنة بالمنحنى المقدر على أساس القيم اللوغاريتمية لهذه الأعداد . ويلاحظ أنه في الحالة الأخيرة يمكن الحصول على خط مستقيم straight line function مبيئا أن معدل الموت أو النجاة يكون مطردا بزيادة وقت التعرض للمادة الكيماوية أو بمعنى آخر أن نسبة الخلايا الميتة تظل ثابتة على فترات الفحص المختلفة .

وهذا النظام اللوغاريتمى للموت نتيجة لفعل المواد السامة يمكن التعبير عنه حسابيا بالمعادلة الآتية والتي على أساسها يمكن تقدير قيمة ثابتة لكل مادة كيماوية ولكل نوع بكتيرى تعرف بمعدل الموت يمكن عن طريقه المقارنة بين تأثير المواد الكيماوية المختلفة .

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{s}{v}$$

حيث K = معدل الموت للمادة الكيماوية السامة لنوع بكتيرى معين .  
t = الوقت المحصور بين التلقيح وأخذ العينة .  
s = عدد الخلايا وقت التلقيح .  
v = عدد الخلايا الناجية بعد مرور الوقت (t) .

ويمكن أيضا إجراء المقارنة بين تأثير المواد الكيماوية المختلفة على أساس تقدير معامل آخر يسمى بمعامل الفينول Phenol constant . ويحسب معامل الفينول بمعرفة النسبة بين تركيز المادة الكيماوية السامة إلى تركيز مادة كيماوية قياسية أخرى كالفينول الذى يبيد نوعا بكتيريا معينيا خلال فترة معينة . الا أن هذا التقدير له عيوب عديدة منها أنه لا يعطى فكرة عن تأثير التركيزات المنخفضة من المادة الكيماوية على فترات أطول من التعريض كما أنه لا يبين حساسية البكتيريات الأخرى للمادة الكيماوية غير تلك التى تستعمل فى تقديره .



وموت الخلايا البكتيرية ليس القياس الوحيد لدرجة سمية المادة الكيماوية إذ أن الموت هو النتيجة النهائية للتسمم الخلوى عندما تتوقف عملية الانقسام بصفة دائمة . وهناك أعراض أخرى غير الموت قد تظهر على الخلايا البكتيرية نتيجة لتسممها بالمواد الكيماوية منها ، ١ — توقف النمو والتكاثر مؤقتا bacteriostasis ،

٢ — اعطاء نمو غير طبيعى كما يحدث عندما تتواجد الخلايا البكتيرية فى بيئة تحتوى على تركيزات أقل من المميتة sublethal من المضادات الحيوية . حيث يختل الانقسام وتستمر الخلايا فى نموها بدون انقسام لتظهر بشكل خيوط تشبه (المكرونة) Spaghetti-like . كما فى حالة البكتيريا *Proteus vulgaris, E. coli* ، عندما تنمو فى وجود تركيزات معينة من البنسلين . ٣ — تفقد الخلايا الموجبة لصبغة جرام إيجابيتها لهذه الصبغة عندما تتواجد فى تركيزات أقل من تلك المميتة لها من البنسلين . Penicillin

وموت الخلايا أو تأثر نموها عندما تتواجد فى بيئة تحتوى على المواد السامة لا تفسر بما يحدث بداخل الخلية وما يؤدى إلى منع النمو أو ظهور الخلايا بالصور السابق وصفها .

من المعروف أن النشاط الخلوى يعتمد اعتماداً كلياً على التفاعلات الحيوية المرتبطة ببعضها البعض والتي تتم عن طريق الانزيمات الخلوية ، فلو توقف أحد هذه التفاعلات فبالتالى يتوقف النمو . والمادة الكيماوية قد تكون على درجة عالية من التخصص بحيث يمكنها إيقاف خطوة واحدة من خطوات أحد التفاعلات الحيوية بالخلية أو أن تكون أقل تخصصاً عندما تتمكن من إحباط عديد من التفاعلات فى وقت واحد ، وتقدر كفاءة المادة الكيماوية السامة تبعاً لصفاتها الكيماوية ولقدرتها على التفاعل مع الجميع الفعالة للمكونات البروتوبلازمية .

وهناك ثلاث مناطق خلوية حساسة يمكن للمواد الكيماوية السامة أن تؤثر

عليها وهى : الغشاء السيتوبلازمى ، السيتوبلازم ، الأجسام الكروماتينية (النواه) .  
وسوف نناقش فيما يلى بقدر الإمكان ما يمكن أن تفعله المواد السامة بكل من هذه المناطق .

#### أولا - الغشاء السيتوبلازمى :

يتركب الغشاء السيتوبلازمى كما سبق أن بينا من بروتينات دهنية lipoprotein ،  
وهو أول حاجز يقابل المادة الكيماوية بعد اجتيازها الجدار الخلوى ، وقد يكون  
الغشاء السيتوبلازمى غير منفذ للمادة الكيماوية المختبرة ولذا فلا يمكنها أن تؤثر  
على الخلية مهما كان لها من تأثير ضار على باقى أجزاء الخلية الداخلية . وباختبار  
التأثير السام لعدد كبير من المواد الكيماوية وجد أن غالبتها غير فعالة لسبب  
واحد هو عدم قدرتها على النفاذ خلال الغشاء السيتوبلازمى . وتطرق جزيئات  
المادة الكيماوية خلال الغشاء السيتوبلازمى يتوقف على العوامل الآتية :

( أ ) درجة تأين المادة : من الناحية النظرية إذا افترضنا أن المواد تدخل  
عن طريق الانتشار البسيط يمكننا أن نتوقع إذن أن الجزيئات المتعادلة يمكنها  
المرور خلال الغشاء السيتوبلازمى بدرجة أكبر من الأيونات ذات الشحنات  
الكهربية المختلفة .

(ب) قيمة pH البيئة : إن قيمة pH البيئة لا تؤثر فقط على درجة  
تأين المادة الكيماوية السامة بل تؤثر أيضاً على درجة تأين المواضع الخلووية  
المستقبلة لها والتي يمكن للمادة الكيماوية التفاعل معها .

وأحيانا قد لا يكون من الضرورى دخول المادة الكيماوية خلال الغشاء  
السيتوبلازمى لتحداث فعلها السام . فقد يمكنها أن تحدث تأثيرها بالتدخل فى  
وظيفة الغشاء الخلوى نفسه وتجعله يفقد نفاذيته الإختيارية أو بمعنى آخر فإن  
المادة الكيماوية تؤثر على الغشاء السيتوبلازمى وتجعله غشاء منفذاً لكل شىء .  
ومن أمثلة هذه المواد تلك المواد المذيبة للدهون مثل الكلورفورم والأسيتون

والأثير والى يمكنها إفساد نفاذية الغشاء السيتوبلازمى الإختيارية نتيجة لاستخلاص محتوياته الدهنية . ، ويمكن أيضاً إفساد خواص الغشاء السيتوبلازمى بإضافة المواد ذات القدرة على خفض التوتر السطحي للسوائل surface tension depressants مثل أملاح الصفراء bile salts أو الصابون detergents وهذه المواد علاوة على تأثيرها فى تقليل التوتر السطحي لطبقة البيئة المحيطة بالغشاء إلا أن لها تأثيرات أخرى على محتويات الغشاء السيتوبلازمى الأنزيمية كما سنبين فيما بعد .

وتدخل المواد الكيماوية فى وظيفة الغشاء السيتوبلازمى قد أمكن ايضاحه أيضاً عن طريق دراسة الفعل السام للمضاد الحيوى بنسلين . وهذا المضاد الحيوى يوقف نمو البكتيريات الموجبة لصبغة جرام بتدخله فى العمليات التى من شأنها حصول هذه البكتيريات على حمض الجلوتاميك من البيئة ، حيث أنها عاجزة تماماً عن تجهيزه بنفسها ، وكما سبق أن بينا فإن دخول هذا الحمض الأمينى ليس عملية إنتشار بسيط ولكنها عملية تتطلب طاقة energy-requiring transport mechanism فالبنسلين فى هذه الحالة يرتبط بطريقة غير عكسية مع مكونات الغشاء الخلوى المسؤولة عن تجهيز الانزيمات الخاصة بدخول حمض الجلوتاميك . ولكنه لا يتدخل فى عمليات تمثيل هذا الحمض داخل الخلية .

#### ثانياً — السيتوبلازم :

إذا تمكنت المادة الكيماوية من المرور خلال الغشاء السيتوبلازمى فأنها ستؤثر على السيتوبلازم باحدى طريقتين :

١ — التفاعل مع البروتين السيتوبلازمى .

٢ — تعطيل بعض التفاعلات الأيضية المعينة .

## ١ — التفاعل مع البروتين السيتوبلازمي :

يؤدي تفاعل المادة الكيماوية مع البروتين السيتوبلازمي إلى تأثيرات متباينة منها :

(١) تمزيق القوى الرابطة bonding forces والتي تحفظ للبروتين السيتوبلازمي حالته الغروية المنتظمة ونتيجة لذلك يحدث تخثر coagulation أو ترسيب precipitation للسيتوبلازم . ومن المواد الكيماوية التي تحدث هذا التأثير المواد المجففة dehydrating agents مثل الأسيتون والكحولات أو التركيزات المرتفعة من الأملاح مثل ملح الطعام وسلفات الأمونيوم وغيرها وهذه العملية لا تؤدي إلى إحباط النشاط الأنزيمي . بل تفسد أيضا كسل التفاعلات الحيوية التي من شأنها حفظ حياة الخلية .

(ب) تؤدي المادة الكيماوية تأثيرها السام عن طريق تفاعلها أو ارتباطها المباشر direct combination أو نتيجة لتغيرها alternation للمجاميع الفعالة الموجودة على جزيئات البروتين الأنزيمي .

وقد يحدث الارتباط بين المادة الكيماوية والمجاميع الفعالة التي توجد عادة على جزيئات البروتين الأنزيمي كما يحدث في حالة مركبات الزئبق أو الزرنيخ التي ترتبط بمجاميع السلفاهيدريل الفعالة . أو يتم الارتباط بالمجاميع الفعالة القاعدية مثل الأمين أو مجاميع إيميدازول imidazole groups : كما يحدث في حالة الفورمالدهيد . والصابون الأنيوني ، والصبغات الحمضية . أو يتم الارتباط بين المادة الكيماوية والمجاميع الفعالة الحمضية مثل مجاميع الكربوكسيل ومجاميع الهيدروكسيل أو بقايا حمض الفوسفوريك ، كما يحدث في حالة المركبات المعروفة باسم quaternary ammonium compounds أو الصابون الكاتيوني ، أو الصبغات القاعدية .

هذا وقوة الرابطة الناتجة بين المادة الكيماوية والمجموعة الفعالة من البروتين الأنزيمي تحدد كثيرا من طبيعة التأثير السام للمادة الكيماوية وعلى أساس قوة الارتباط يكرن تأثير المادة تأثيرا دائما أو تأثيرا مؤقتا ، فمثلا عندما ترتبط أيونات الزئبق مع البروتين الأنزيمي لبعض الكائنات عن طريق مجاميع السلفاهيدريل يتم هذا الارتباط بطريقة ضعيفة تسمح فيما بعد بانعكاس التفاعل ، بمعنى أن تنفصل أيونات الزئبق مرة ثانية عن جزيئات البروتين الأنزيمي عندما تبتعد الخلايا عن مسرح المادة الكيماوية أو عند إضافة مادة غنية بمجاميع السلفاهيدريل مثل الجلوتاثيون glutathione أو مادة ٢ ، ٣ داي ميركابتو بروبانول 2,3 dimercaptopropanol ، من ذلك نرى أن تأثير أيونات الزئبق في هذه الحالة مؤقتا وليس دائما .

ويرجع التأثير الموقوف للنمو البكتيري لبعض الصبغات إلى تكون روابط ملحية ضعيفة مع البروتين الأنزيمي وهذه الروابط تتأين فيما بعد تاركة البروتين الأنزيمي كما كان من قبل .

ومن الناحية الأخرى نجد أن التأثير الدائم للمواد المبيدة bac tericidal agents يحدث نتيجة للتغيرات غير العكسية التي تتم للبروتين الأنزيمي ، أو نتيجة لتكوين روابط قوية يصعب كسرها أو الرجوع فيها تحت الظروف الفسيولوجية .

وارتباط المادة الكيماوية السامة بالبروتين الأنزيمي بالخلية يتوقف على عدة عوامل أهمها :-

١ - دخول المادة الكيماوية داخل الخلية .

٢ - تنشيط الجزيئات المستقبلية حتى يمكنها أن ترتبط مع المادة الكيماوية . وهذا يمكن توضيحه من تأثير قيمة pH . البيئة على التأثير السام لبعض المركبات كالصابون أو الأصباغ على خلايا البكتيريا . فالصابون الكاتيوني والصبغات



القاعدية تكون ذات تأثير أكثر سمية للبكتيريات في المجال القلوى من درجات الـ pH أو بمعنى آخر عندما تكون تحت ظروف تقلل من درجة تأينها وتزيد من كمية جزيئاتها المتعادلة في البيئة ، وهذه لها قدرة أكبر على اختراق الغشاء السيتوبلازمى كما سبق أن بينا من قبل ، وتحت نفس الظروف ( pH مرتفع ) يزداد أيضا تأين المحاميع الحمضية الفعالة والتي تتواجد على جزيئات البروتين الأنزيمى مما يزيد الفرصة في حدوث الارتباط . والعكس صحيح فيما يختص بالمواد الكيماوية الحمضية والتي تتفاعل أو ترتبط بالمحاميع القاعدية الفعالة من البروتين الأنزيمى ، حيث يزداد فعلها السام على الدرجات المنخفضة من الـ pH . ويجب أن نعلم أن الارتباط بين المواد الكيماوية السامة والبروتين الخلوى ليس مقصوراً على البروتين الخلوى الداخلى فقط ، بل يمكنه أيضاً أن يحدث للبروتينات المكونة للغشاء السيتوبلازمى ، وينتج عن هذا الارتباط تثبيط لفعل الانزيمات الخلوية بهذه المنطقة من الخلية . فبعض البروتينات الأنزيمية يتوقف نشاطها نتيجة لأرتباط المادة السامة مع مجاميعها الأمينية والبعض الآخر يتوقف نشاطها لأرتباط مجاميعها الهيدروكسيلية أو السلفاهيدريلية بالمادة الكيماوية السامة . من ذلك نجد أن وجود مادة كيماوية واحدة قد تعمل على إيقاف نشاط عديد من الانزيمات ذات الوظائف المختلفة ، ولما كانت مثل هذه المواد الكيماوية غير متخصصة في فعلها السام ، لذا فإنها لا تستعمل داخلياً في علاج الأمراض الميكروبية ، حيث أنها قد تتحد أيضاً مع بروتينات خلايا العائل مؤدية إلى حدوث أعراض تسممية بجسمه ، إلا أنه يمكن استعمال بعض هذه المواد خارجياً لتطهير سطح العائل ، ويشترط معها ألا تصل إلى أنسجته الداخلية ، كما أن منها ما يستعمل في تعقيم عوامل نقل الأمراض المعدية ، مثل المياه ، أو أدوات وأوعية الطعام ويجب أن نلاحظ أن الكفاءة التعقيمية لهذه المواد تتأثر كثيراً بدرجة وجود المواد العضوية بالمياه أو الأدوات المراد تعقيمها .

ومن أمثلة هذه المواد التي تستعمل لعلاج الأمراض السطحية أو في التعقيم

السطحي لعوامل نقل الأمراض ما يلي :

الفينول ومركباته : يستعمل منه محلول مائي ٢ — ٥٪ لتعقيم الأدوات ، والأجهزة وسطح المناضد والأرضيات ، ويلاحظ أن الجراثيم البكتيرية ، والفيروسات تقاوم تأثيره بدرجة واضحة ، ويتم الفعل السام للفينول على الخلايا الحضرية عن طريق إفساد أو هرجلة ( denaturation ) ، البروتين الحلوى والغشاء السيتوبلازمي .

الكحولات : يعتبر كحول الإيثايل بتركيز ٥٠ — ٧٠٪ أكثر الكحولات استعمالاً في أغراض التطهير الخارجي إلا أنه لا يمكن الاعتماد عليه في عمليات التعقيم حيث أن تركيزاته التي تؤثر على الخلايا الحضرية لا تؤثر على الجراثيم البكتيرية . هذا والكحولات الأخرى مثل كحول الميثايل يعتبر أقل كفاءة من كحول الإيثايل في قدرته التعقيمية ، إلا أن كلا من كحول البروبايل ، وكحول البيوتاييل ، يعتبران أقوى كثيراً في قدرتهما التعقيمية عن كحول الإيثايل إلا أنهما لا تستعملان في هذا الصدد .

وتؤدي الكحولات عموماً فعلها السام نتيجة لتجميعها للبروتين الحلوى وكذا لتأثيرها التجفيفي على الخلايا dehydrating effect .

اليود : محلوله في الكحول أو في محلول مائي من يوديد البوتاسيوم يستعمل بكثرة في معالجة الجروح والحدوش للوقاية من التلوثات السطحية في جسم الإنسان والحيوان ، وله تأثير مبيد غير متخصص على عدد كبير من البكتيريا كما ويقال أن له تأثيراً مبيداً للجراثيم البكتيرية أيضاً ، علاوة على تأثيره الضار للفطريات fungicidal والفيروسات virucidal لحد ما . واليود يؤدي فعله السام باتحاده وارتباطه غير التخصصي بالبروتين الحلوى لذلك فهو ذو تأثير مبيد . ويحضر محلوله المائي المستعمل في علاج الجروح من (٥٪ يود في محلول ١٠٪ يوديد بوتاسيوم) ، ومحلوله الكحولي (٧٪ يود في محلول ٥٪ يوديد البوتاسيوم في ٨٣٪ كحول إيثايل) .

الكلور ومركباته : الكلور الغازى أو مركبات الكلور التى ينطلق منها الكلور فى صورة غاز يعتبر من أهم المطهرات الكيماوية ويستعمل الكلور الغازى المضغوط فى تعقيم مصادر المياه المختلفة ، إلا أنه يصعب استعماله على هذا النحو إلا إذا توفرت الأجهزة الخاصة بهذا الاجراء والتى تتوفر فقط فى شركات المياه الكبيرة .

وفىما يلى بعض مركبات من الكلور التى يمكن إستعمالها بطرق أكثر سهولة من الكلور الغازى نفسه وهى تؤدى نفس التأثير السام :-

١ - الهيبوكلوريتات Hypochlorites ، ويستعمل منها مركب هيبوكلوريت الكالسيوم أو الجيز المعامل بكلور chlorinated lime بكثرة لهذا الغرض ، وهى تتوفر على صورة سائل أو مسحوق بتركيزات مختلفة والمركبات التى تحتوى على ٥-٧٠٪ هيبوكلوريت الكالسيوم ، تستعمل فى تطهير أدوات وأجهزة معامل الألبان . ويمكن استعمال محلول ١٪ من هيبوكلوريت الكالسيوم فى التطهيرات المنزلية ، أما التركيزات المرتفعة من هذه المادة (٥-١٢٪) فهى تستعمل كمحاليل مزيله للألوان bleacher وكمحاليل مطهرة قوية تخفف وتستعمل بالمنازل أو بمعامل الألبان أو مصانع المياه الغازية أو حفظ الأغذية .

٢ - الكلورامينات Chloramines ، وهى تحضر باحلال ذرة أو ذرتين من الكلور محل ذرة أو أثنتين من الأيدروجين فى مجاميع الأمين بالمركبات المحتوية على هذه المجاميع الأمينية . وأبسط هذه المركبات المادة مونوكلورامين monochloramine (ن يد ٢ كل) . وهناك مركب آخر هو chloramine T. ذو تركيب أكثر تعقيداً وهو P-toluene sulfonchloramide ويستعمل بكثرة كمطهر قوى فى عديد من الأغراض ، ومن المميزات الهامة لهذه الكلورامينات أنها أكثر ثباتاً من الهيبوكلوريتات لذلك فهى تزيد فترة التعقيم.

والفعل التعقيمي للكلور ومركباته يرجع إلى تكوين حمض hypochlorous acid والذي يتكون عند إضافة الكلور إلى الماء كما يلي :



وبالمثل يمكن لمركبات الهيبوكلوريت والكلورامينات أن تتحلل مائياً مكونة نفس الحمض السابق ذكره (يد كل ١) مع انطلاق الأكسوجين الذي يعمل كعامل مؤكسد قوى ، ونتيجة لهذه الأكسدة القوية تتأثر الأحياء الدقيقة وتموت ، وعلاوة على ذلك فإن الفعل السام للكلور ومركباته قد يرجع أيضاً إلى اتحاده وارتباطه بالبروتينات الخلوية .

فوق أكسيد الأيدروجين : يستعمل كمادة مطهرة خارجياً وذلك نتيجة لأكسدته للبروتينات الخلوية نتيجة للذرات الأكسوجينية المنطلقة منه كما أنه يعمل على تسمم البكتيريا غير الهوائية التي قد تتواجد مكونة لكثير من الحالات التي يمكنها أن توفر وسطاً غير هوائى .

المعادن الثقيلة ومركباتها : معظم المعادن الثقيلة أو مركباتها تكون ذات تأثير سام على الكائنات الحية الدقيقة ، وأكثر هذه المعادن تأثيراً في هذا الصدد الزئبق ، والفضة والنحاس .

ويعرف الفعل السام للتركيزات المنخفضة من بعض المعادن وبخاصة الفضة بالفعل الأوليجوديناميكي oligodynamic action واشتقت التسمية من اللفظين اليونانيين oligo بمعنى صغيرة dynamis بمعنى تأثير وقوة (أى قوة وتأثير التركيزات الصغيرة) . ويمكن إبراز هذه الظاهرة عند وضع قطعة من المعدن (عملة فضية أو نحاسية) على سطح أجار ملقح بطبق بترى يترك لفترة حضانة مناسبة فتظهر منطقة خالية من النمو حول قطعة المعدن . وكمية المعدن التي تؤدي إلى منع النمو حول العملة تعتبر صغيرة جداً تقدر بأجزاء بسيطة لكل مليون جزء من البيئة ، ويرجع فعل المعادن في إيقاف النمو إلى ارتباط

ايوناتها بالبروتينات الخلوية كما سبق أن بينا ، وبهذه الطريقة أمكن التعرف على المعادن ذات التأثير السام القوي واستعمال محاليل أملاحها في أغراض التعقيم والتطهير المختلفة منها معاملة مصادر المياه ، أو تجهيز الأربطة أو الدهانات المعقمة .

وهناك بعض مركبات للمعادن الثقيلة يمكن استعمالها كمطهرات أو معتمات وأهمها مركبات الزئبق غير العضوية مثل : كلوريد الزئبقيك mercuric chloride ، وكلوريد الزئبقوز mercurous chloride ، والزئبق المعامل بالأمونيا ammoniated mercury . وتوجد مطهرات زئبقية عضوية مثل مركب ميركروكروم mercurochrome و metapen و merthiolate و mercresin وكذلك مركبات الفضة والتي تستعمل منها نترات الفضة ، أو لكينات الفضة Silver lactate ، أو بيكرات الفضة Silver picrate . ومركبات النحاس والتي تستعمل منها كبريتات النحاس فقط .

وأملح المعادن الثقيلة عموما ، قد تعمل على قتل الخلايا نتيجة لأرتباطها مع البروتين الخلوي علاوة على قدرتها الترسيبية له عندما توجد في تركيزات مرتفعة نسبياً . والتأثير السام للتركيزات المنخفضة من هذه الأملاح قد بين أنها تدخل في العمليات الأنزيمية بطريقة معينة تختلف عن الطرق السابقة ولكنها لازالت غير معروفة .

**الصبغات : Dyes :** إذا زرعت بكتيريا غير متعرف عليها على بيئة آجار مناسبة تحتوي على ١٠-٥ من صبغة الكريستال البنفسجي ، فإن حدوث نمو على سطح هذه البيئة يعنى أن البكتيريا النامية سالبة لصبغة جرام ، حيث أن هذه الصبغة تمنع نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام دون أن تؤثر على تلك السالبة لهذه الصبغة ، هذا وتشد البكتيريا المقاومة للأحماض عن هذه القاعدة حيث أنها لا تقاوم التأثير السام لهذه الصبغة . وهناك صبغات أخرى



مثل صبغة الأخضر الزاهى Brilliant green وأخضر المالاكيت يمكنها أن تمنع نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام دون السالبة لهذه الصبغة .

وقد استغلت هذه الحقائق عملياً في الدراسات البكتريولوجية في إيجاد بيئات إنتخابية selective ، حيث يمكن إضافة بعض الأصباغ إلى البيئات الغذائية لمنع نمو بعض المحاميع البكتيرية .

وتستعمل هذه الطريقة في البكتريولوجيا الطبية في أعمال الصحة العامة حيث أن التعرف على بكتيريا القولون يكون لها أهمية خاصة في هذه الدراسات فتنتخب أصباغ لها القدرة على منع نمو البكتيريا الموجبة لصبغة جرام دون التأثير على الأنواع السالبة لهذه الصبغة .

هذا والتأثير السام للأصباغ قد يؤدي علاوة على التفرقة بين البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام إلى تمييز درجة حساسية الأنواع البكتيرية المختلفة لهذه الأصباغ ، وقد ساعد هذا كثيراً في عمليات التعرف على البكتيريا المجهولة ، فمثلاً صبغة أخضر المالاكيت يمكنها أن تمنع نمو البكتيريا *Staph. aureus* . دون البكتيريا *E. coli* عندما تتواجد بالبيئة بتركيز ١٠-٧ أما إذا زاد تركيزها إلى ١ : ٣٠,٠٠٠ فان ذلك يمنع أيضاً نمو البكتيريا الأخيرة .

والأصباغ قد تستعمل إلى حد ما كمواد مطهرة ، فمثلاً صبغات الأكردين acridine dyes مثل ( Acriflavine ) يمكنها أن تمنع نمو عدد كبير من البكتيريا وخاصة الموجبة لصبغة جرام .

لذلك فهي تستعمل في تطهير الجروح والأغشية المخاطية وفي بعض العمليات التطهيرية الأخرى ، وصبغة الكريستال البنفسجي تستعمل ظاهرياً أحياناً في علاج الاصابات الجلدية الناتجة عن بعض البكتيريا الموجبة لصبغة جرام ، وكذا الناتجة عن بعض الفطريات .

وطريقة فعل الأصباغ في منع نمو الكائنات الحية الدقيقة يرجع إلى ارتباطها مع المحاميع الفعالة الحمضية أو القلوية (حسب نوع الصبغة) من البروتين الحلوى .

الصابون والمركبات الحافظة للتوتر السطحي Soaps & synthetic detergents

يطلق اسم detergents عادة على المواد التي تقلل من التوتر السطحي للسوائل أو المواد المبللة والتي منها الصابون بمختلف أنواعه .

والصابون عبارة عن أملاح الصوديوم أو البوتاسيوم للأحماض الدهنية ، وهي تعتبر في مجموعها مطهرات متوسطة القوة ، وذات قدرة اختيارية في التأثير على البكتيريا . فمثلا البكتيريا Streptococci و Pneumococci تعتبر أكثر حساسية نسبياً لفعل الصابون عن Staphylococci والبكتيريا السالبة لصبغة جرام والبكتيريا الموجبة للصبغ المقاوم للأحماض ، والأهمية القصوى في استعمال الصابون تتمثل في الإزالة الميكانيكية للبكتيريا عن الأجسام التي تعامل بها مثل الأيدي والملابس وغيرها ، كما أنه يقلل من التوتر السطحي للماء ويجعله أقدر على التغلغل والالتصاق بالأشياء المغسولة به . هذا علاوة على قدرة الصابون على استحلاب وإذابة الزيوت والشحوم والمواد الملوثة الأخرى . وقد يضاف عديد من المواد الكيماوية عند تصنيع الصابون لتزيد من قدرته التعقيمية مثل مادة الفينول وحمض البوريك وبعض المواد المطهرة الأخرى .

وقد قادت الرغبة في إنتاج أنواع محسنة من الصابون إلى إنتاج مواد كيميائية تركيبية تعرف بالـ synthetic detergents والكثير منها أكثر كفاءة من الوجهة التنظيفية والتعقيمية من الصابون العادي ، وتستعمل هذه المواد في أغراض الغسيل الميكانيكي للملابس والأدوات المنزلية ، وفي مستحضرات غسيل الشعر shampoos وغيرها . وعلاوة على التأثير المطهر لهذه المواد إلا أن لها تأثيراً مميتاً لكثير من البكتيريا ومن أمثلة هذه المواد :

١ — تلك التي تتأين ويظل فعلها المطهر في الأنيونات anions الناتجة وتعرف بالصابون الأنوني anionic detergents مثل مركب سلفات لوريل الصوديوم sodium lauryl sulfate

٢ — تلك التي تتأين ويظل فعلها المطهر في الكاتيونات الناتجة cations وتعرف بالصابون الكاتيوني cationic detergents مثل مركب كلوريد السيتل برينيم cetylpridenum chloride . وهي أكثر تأثيراً من ناحية إبادة الميكروبات عن النوع الأول .

٣ — والنوع الثالث غير متأين ويعرف nonionic detergents وليس له أى تأثير مبيد أو مطهر للميكروبات .

مركبات الأمونيوم الكواتيرنارية : Quaternary ammonium compounds :

تدرج معظم مركبات الصابون الكاتيوني ذات التأثير المبيد للميكروبات ضمن هذه المجموعة من المركبات ، ومن أمثلتها كلوريد السيتل برينيم Cetyl pridenum chloide الذى يعرف باسم Ceepryn كما أن هناك مركبات أخرى تعرف باسم زيفيران Zephiran وفيميرول Phemerol وكثير غيرها تباع بالأسواق تحت أسماء تجارية مختلفة لأغراض التطهير السطحي .

والتأثير المبيد لهذه المركبات يشمل كلا من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام ، وتتراوح التركيزات المبيدة منها بين ٠.١٪ — ٠.١٪ ، والتركيزات الموقفة لنمو البكتيريا منها تكون منخفضة جداً بالمقارنة بالتركيزات المبيدة ، وعلاوة على تأثيرها المبيد للبكتيريا ، فلها أيضاً تأثير امبيد للفطريات ، وبعض البروتوزوات . إلا أن الفيروسات أكثر مقاومة لتأثيرها عن الكائنات الحية الدقيقة الأخرى .

ونظرا لما تتميز به هذه المواد من صفات مبيدة للبكتيريات ولشبسات فاعليتها لفترات طويلة نسبيا . علاوة على تأثيرها المنظف ، وعدم تأثيرها على المعادن ، فهي تستعمل بكثرة في أغراض التطهير والتعقيم في مصانع الأغذية والمشروبات الغازية والألبان .

وكما سبق أن بينا أن الفعل المبيد لهذه المركبات يرجع إلى إتحادها مع البروتين الخلوى مؤدية إلى إيقاف النشاط الأنزيمى للخلايا ، علاوة على قدرتها على هرجلة البروتين الخلوى مؤدية إلى فساد الغشاء السيتوبلازمى وخسروج محتويات الخلية cytolysis خارجه .

الفورمالدهيد : الفورمالدهيد عبارة عن غاز يكون ثابتاً فقط عندما يوجد في تراكيزات مرتفعة أو على درجات مرتفعة من الحرارة . إلا أنه يتحول إلى مادة صلبة على درجات الحرارة العادية (حرارة الغرفة) . وأهم صورة لهذا الغاز هي البارافورمالدهيد paraformaldehyde . وهذه عبارة عن مادة صلبة عديمة اللون . ينطلق منها غاز الفورمالدهيد عندما ترفع حرارتها . وغاز الفورمالدهيد يمكن الحصول عليه في صورة محلول مائى يعرف باسم الفورمالين وهو يحتوى على ٣٧-٤٠٪ فورمالدهيد .

والفورمالين والبارافورمالدهيد هما المصدرين الرئيسيين لغاز الفورمالدهيد اللازم في الأغراض التعقيمية أو التطهيرية المختلفة . فإذا ما رفعت درجة حرارة أى من المركبين في مكان مغلق لفترة كافية ، ينطلق غاز الفورمالدهيد الذى يظهر المكان . ومن ناحية تأثيره المبيد للبكتيريا فقد وجد أن غاز الفورمالدهيد يؤثر على الخلايا الحضرية بدرجة أكبر منها على الجراثيم .

## ٢ — تأثير المواد الكيماوية نتيجة تعطيلها لعمليات أيضية معينة

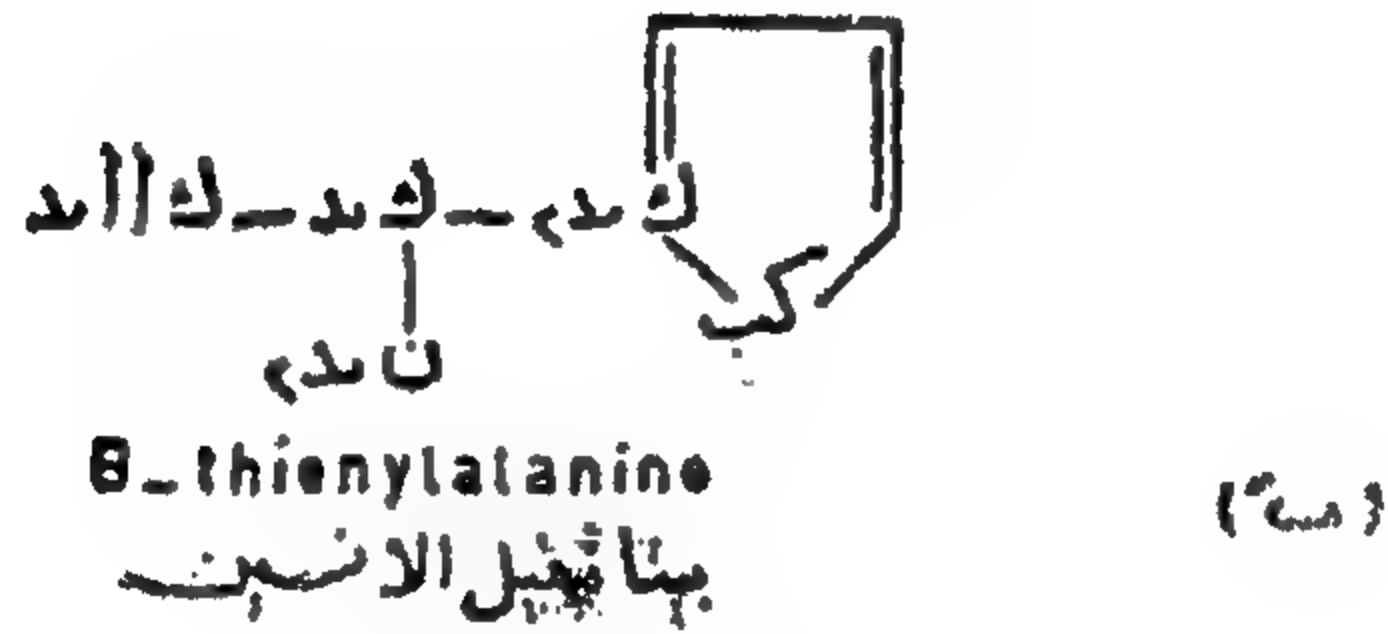
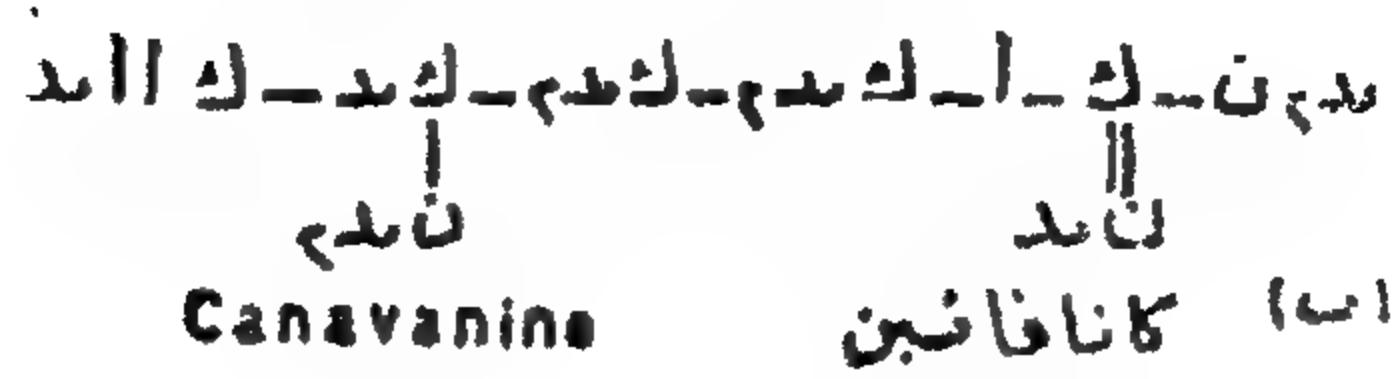
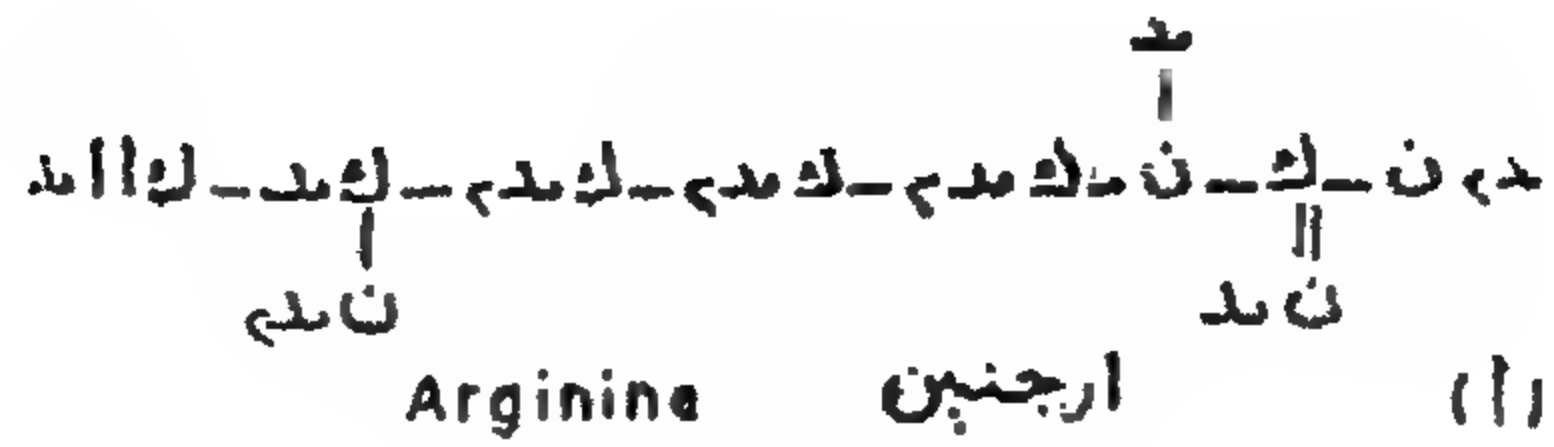
Effect of chemicals through blocking specific metabolic reactions

قد تتوقف الخلية البكتيرية عن النمو بصفة دائمة أو مؤقتة إذا ما تدخلت المادة الكيماوية في التفاعلات الأيضية مؤدية إلى تعطيلها بطريقة غير عكسية ، وقد تكون التفاعلات التي تعطل مسئولة عن تخليق مادة أو مواد أيضية هامة للنمو وهذه المواد الأيضية الهامة تعرف باسم essential metabolite(s) ونتيجة لغياب هذه المواد تتوقف الخلية كلية عن النمو . والمواد الكيماوية التي تحدث مثل هذا التأثير تعرف بالمواد المضادة لتكوين المواد الأيضية antimetabolites وهي غالباً تكون ذات تركيب كيماوى متشابه إلى حد ما مع المركبات الأيضية الهامة بالخلية وبذلك يمكنها أن تدمص على البروتين الأنزيمى، تماماً كمادة تفاعل الأنزيم ونظراً لعدم تطابقها في التركيب الكيماوى فأن إدمصاصها على البروتين الأنزيمى يمنع سير التفاعل بطريقته المعتادة .

وقد جربت عدة مواد متشابهة في التركيب مع عديد من المواد الأيضية الهامة ولكن ثبت عدم كفاءة غالبيتها وذلك لعدم قدرة بعضها على النفاذ خلال الغشاء السيتوبلازمى أو لعدم كفاية التشابه بينها وبين مادة تفاعل الأنزيم المسئول بدرجة تسمح بأدمصاصها على سطح البروتين الأنزيمى . ويبين شكل ٨٠ بعض المواد الأيضية ومشابهاتها من المواد الكيماوية .

هذا والمواد الكيماوية التي تمنع تكوين المواد الأيضية الهامة بالخلية تعتبر فقط مواد موقفة للنمو أى أنها توقف نمو البكتيريا بصفة مؤقتة عندما تتواجد بتركيزات ضئيلة . ويحدث ذلك غالباً نتيجة للتنافس الذى يتم بين المسادة الكيماوية ومادة التفاعل الأنزيم المسئول ، على سطح البروتين الأنزيمى . فاذا أضيف مادة تفاعل أو ناتج تفاعل الأنزيم بتركيز عال فإن ذلك يقلل من أو يلغى التأثير الضار للمادة الكيماوية السامة حيث أن ذلك سوف





شكل ٨٠ : امثلة من المواد الايضية الهامة metabolites ، ا ، آ ومشابهاتها والتي تضاد تكوينها بالخلية antimetabolites ب ، ب .

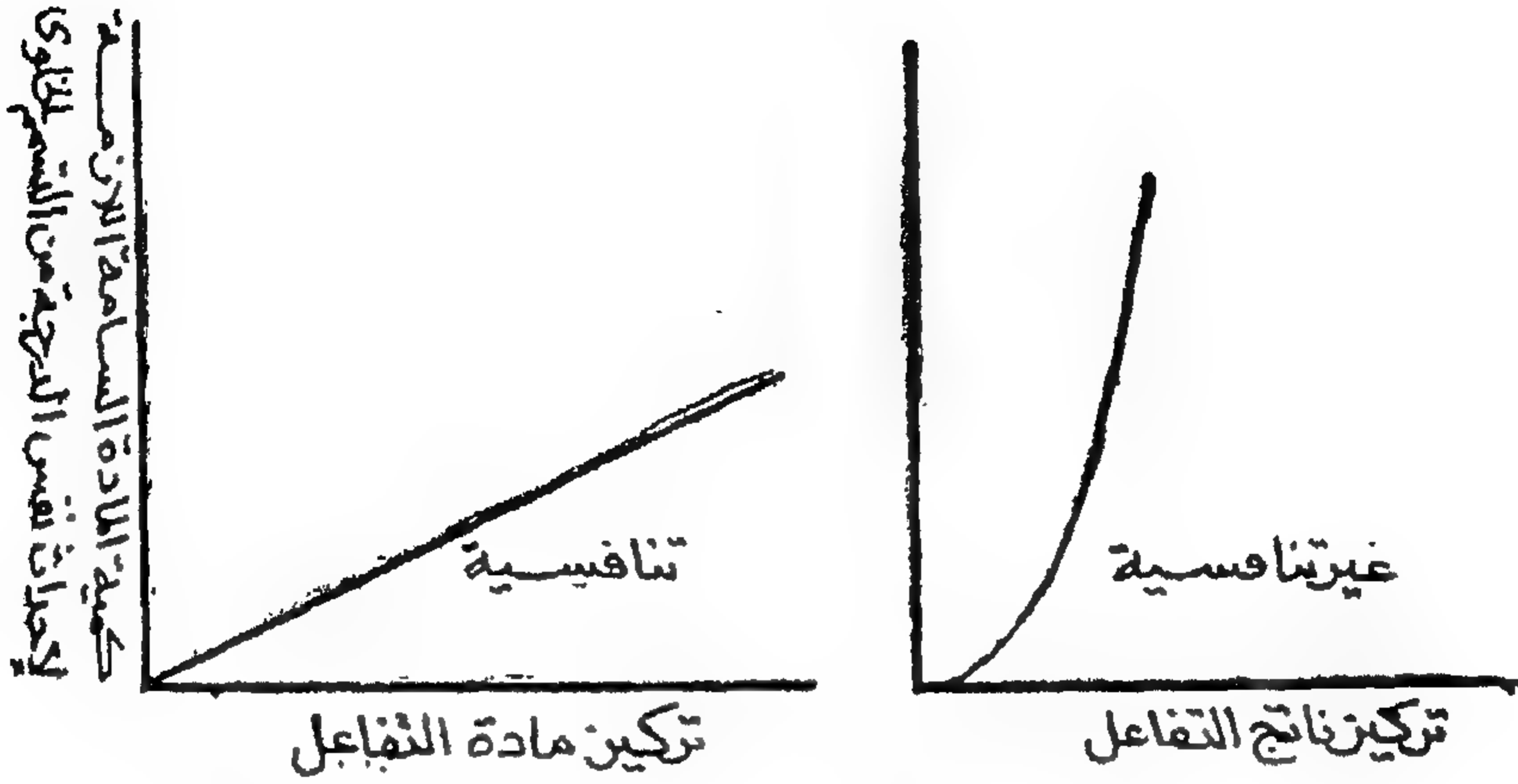
يسمح باستمرار التفاعلات الأيضية الخلوية بطريقتها المعتادة . والمواد التي يمكنها أن تعكس أو تلغى فعل المواد الكيميائية السامة هذه قد تحدث تأثيرها بطريقة تنافسية أو غير تنافسية ، ويمكن أن يقدر لكل مادة من هذه المواد قيمة تعرف « بمعامل التثبيط inhibition index » والذي يختلف من مادة إلى أخرى ويقدر معامل التثبيط طبقاً للمعادلة التالية :-

تركيز جزيئات المادة السامة

معامل التثبيط =

تركيز جزيئات المادة الكيميائية التي تعكس الفعل السام

والذي يسمح بالنمو



شكل ٨١ : انواع المنحنيات التي يمكن الحصول عليها في حالة عكس التأثير الموقوف للنمو البكتيري بطريق تنافسي او غير تنافسي . ( ا ) لاحظ ان زيادة تركيز مادة تفاعل الانزيم ايضا من تركيز المادة السامة اللازمة لحدوث درجة معينة من التسمم الخلوي . ( ب ) لاحظ ان إضافة ناتج تفاعل الانزيم المعطل يسمح بحدوث النمو في وجود التركيزات المرتفعة من المادة السامة .

وكما قلت قيمة معامل التثبيط المقدّر لمادة معينة كلما كان تأثير هذه المادة في عكس أو الغاء التسمم الخلوي تأثيرا تنافسيا والعكس صحيح . ويبين شكل ٨١ المنحنيات المتحصل عليها عند إضافة المواد العاكسة لفعل بعض المركبات السامة بطريقة تنافسية وغير تنافسية :

وعموما فإنه يمكن عكس الفعل الضار للمواد الكيماوية التي تنافس المواد الأيضية الهامة على سطح الأنزيم بجملة طرق أهمها ما يلي :-

١- زيادة مادة التفاعل الأيضية metabolite : بحيث تفوق تركيزها تركيز المادة الموقفة للنمو inhibitor في البيئة ، حيث أن ذلك يسمح بادمصاص كمية كبيرة من جزيئات مادة التفاعل على سطح البروتين الانزيمي مما يؤدي إلى زيادة ناتج تفاعل الانزيم بدرجة تسمح باستمرار النمو بالرغم من وجود المادة السامة . وعساده يكون فعل مادة التفاعل في إعادة النمو فعلا تنافسيا .

٢ - توفير ناتج تفاعل الانزيم الذى يعطل نشاطه نتيجة لادمصاص المادة (الدخيلة) على سطحه . وحيث أن غياب ناتج التفاعل هو السبب في توقف النمو البكتيرى ، إذن فإضافته للبيئة يعيد النمو بالرغم من توقف الانزيم عن النشاط . فيكون فعل ناتج التفاعل إذن من النوع غير التنافسى non-competitive . ويجب أن نفرق هنا بين الفعل غير التنافسى للمادة المضافة كأضافة ناتج التفاعل كما سبق أن بينا وبين عملية التثبيط الانزيمى غير التنافسى noncompetitive inhibition حيث تتحد المادة السامة بالانزيم في مكان غير ذلك الخاص بمادة التفاعل . ويشترط في هذا النوع من التثبيط اشتراطان هما : ( أ ) أن المادة السامة تحدث تأثيرا مانعا للنمو بدرجة عامة (ب) أن اتحاد المادة السامة بالانزيم تكون مستقلة عن مادة التفاعل . وهناك نوع آخر من التثبيط يعرف بالتثبيط عكس التنافس uncompetitive وفيه أن المادة السامة تتحد مع المركب الناتج من اتحاد مادة التفاعل والانزيم نفسه .

٣ - يمكن التغلب على الفعل السام للمادة الكيماوية بتوفير أى مادة تحل محل مادة التفاعل مثل المواد التى تزيد من معدل نشاط الانزيم ويجعله يعمل بسرعة أكبر مثل اضافة المرافقات الانزيمية . أو باضافة مواد يمكنها أن تتحول إلى بعض المركبات التى تشتق منها ناتج التفاعل الذى أوقف انتاجه بالخلية بمعنى أن يقلل درجة احتياج الخلية من ناتج التفاعل الانزيمى .

٤ - يمكن أيضاً التغلب على الفعل السام للمادة الكيماوية باضافة بعض المواد التى تؤدي إلى انتاج وحدات أكثر من الانزيم نفسه (مثل المواد المبدئية لتكوين الأنزيم precursors أو المرافقات الانزيمية) .

٥ - إضافة بعض المواد التى تتفاعل مع المادة السامة وتزيلها أو تؤدي إلى تقليل تركيزها في البيئة وبالتالي داخل الخلايا .

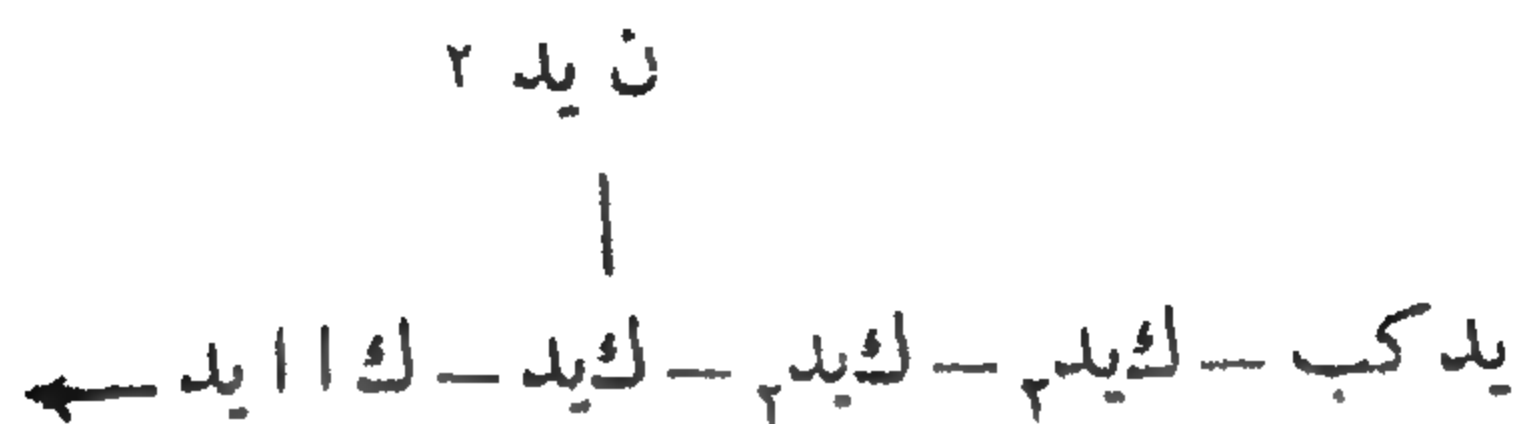
هذه هى الطرق التى يمكن بواسطتها الغاء أو عكس الفعل السام للمواد

الكيمائية نتيجة لتنافسها مع المادة الأيضية على سطح الانزيم وتعطيها لتكوين بعض المواد الأيضية الأساسية للخلية .

وقد بدأ الاهتمام العملي بالمواد الكيميائية التنافسية واستعمالها كمواد موقفة لنمو البكتيرياات عندما بين Wood (١٩٤٠) أن مركب السلفانيلاميد Sulfanilamide ومشتقاته تعتبر مواد موقفة للنمو نتيجة لتنافسها مع حمض البارأمينوبنزويك P-aminobenzoic acid على سطح الأنزيم المسئول عن تكوين حمض الفولك بداخل خلايا الخميرة .

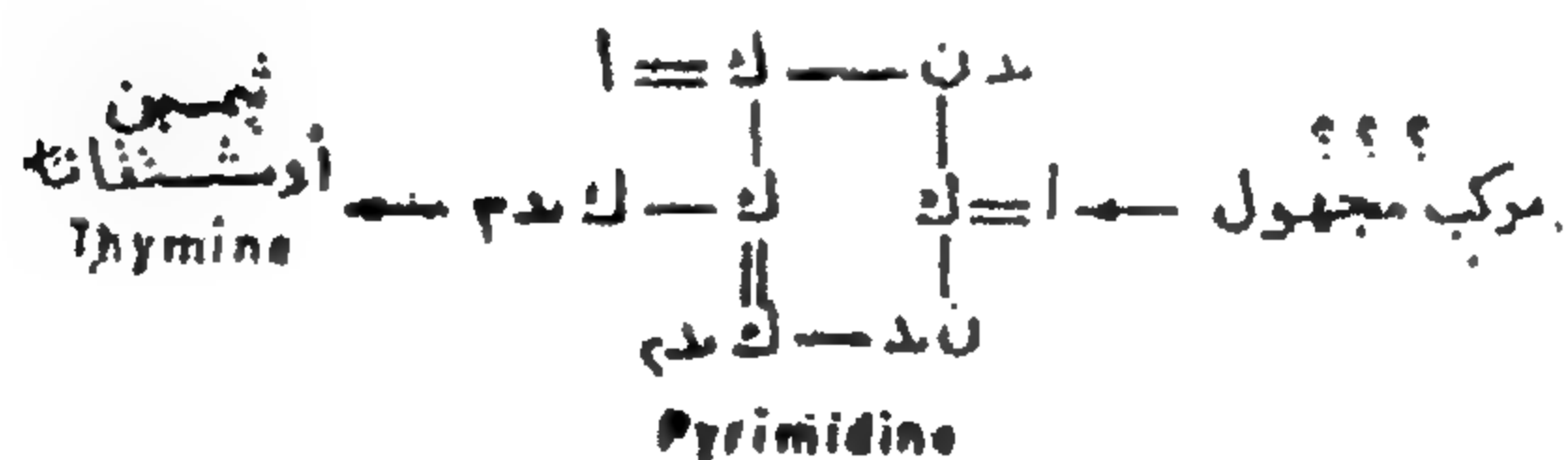
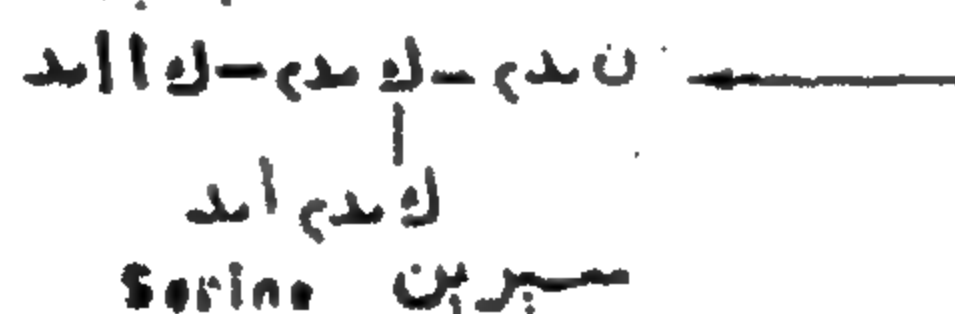
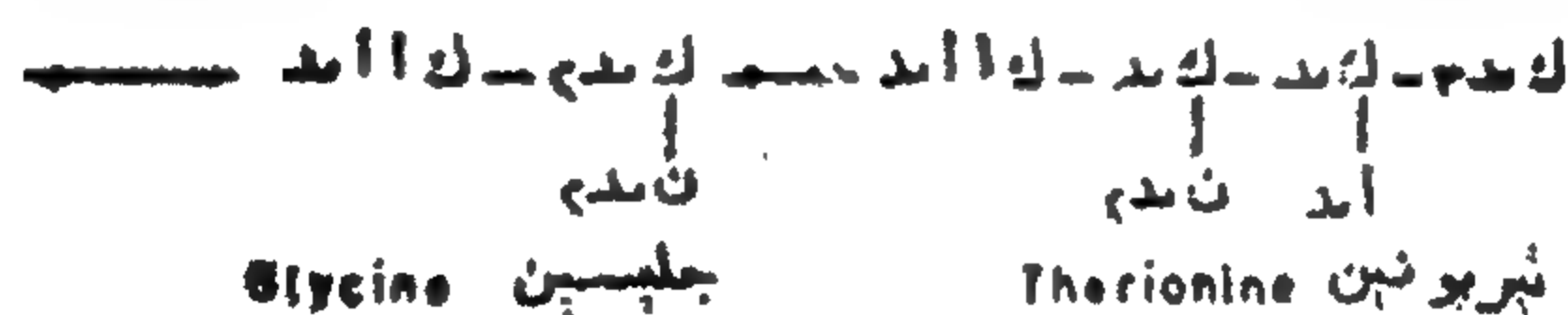
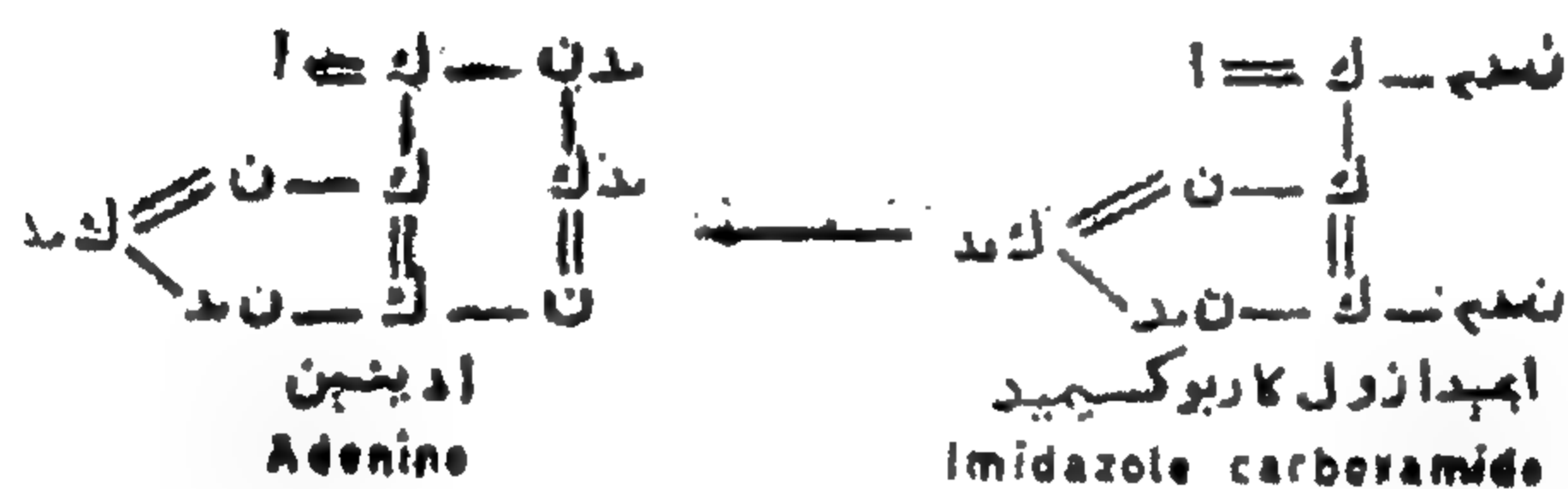
وفيما بعد أثبت Shive (١٩٥٠) أن وجود مركب السلفانيلاميد بالبيئة يمنع نمو البكتيريا *E. coli* كلية ، كما بين أن إضافة مركب الهوموسستاتين homocysteine إلى مثل هذه المزرعة يمكنه إعادة النمو ثانية بطريقة تنافسية وأن إضافة المركب ميثايونين methionine يمكنه أيضا أن يعيد النمو ولكن بطريقة غير تنافسية . كما بين أيضا أنه بأضافة مزيد من مركب السلفانيلاميد لمثل هذه المزارع يتوقف النمو ثانية بالرغم من وجود الهوموسستاتين أو الميثايونين الا أنه عند إضافة مركب ما من مركبات البيورينات purines لمثل هذه المزارع يعود للنمو نشاطه مرة أخرى ، مع تكديس مركب إيميدازول كاربوكسيميد imidazole carboximide بالبيئة . كما وجد أيضا أن إضافة الحمض الأميني جليسين glycine بدلا من البيورينات يزيد أيضا من تكديس المركب الأخير بالبيئة .

وإذا أضيف مزيدا من مركب السلفانيلاميد إلى المزرعة فان ذلك يوقف النمو مرة تالية رغم وجود كل من الميثايونين والبيورينات بها ، إلا أنه يمكن إعادة النمو مرة أخرى بأضافة الحمض الأميني Serine إلى المزرعة . أما إذا استمر زيادة تركيز السلفانيلاميد بالبيئة حتى يتوقف النمو مرة أخرى فان النمو يمكن استرجاعه بأضافة مركب الثيمين thymine أو حمض الفوليك Folic acid . ومن هذه الإضافات أمكن التعرف على أن هناك سلسلة من



لۇيدۈ ۳ - كىب - لۇيدۈ ۲ -- لۇيدۈ ۲ - لۇيدۈ ۱ - لۇيدۈ ۱

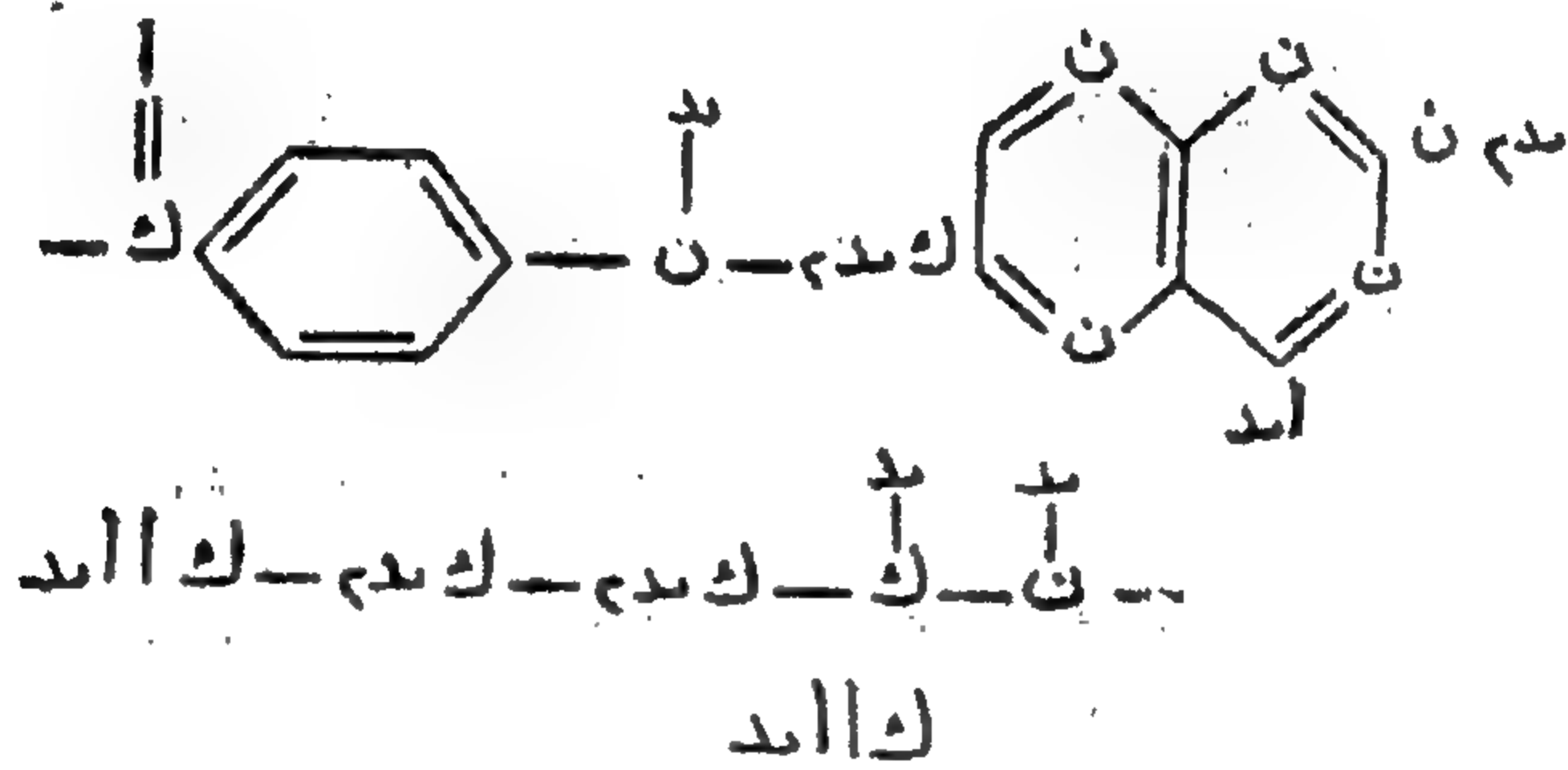
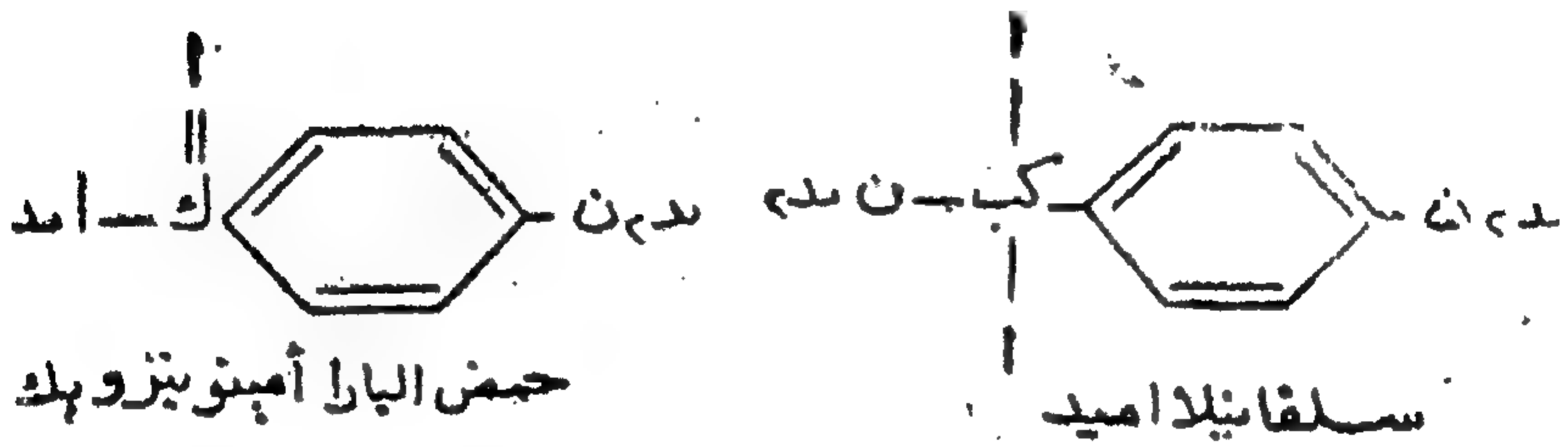
میشونین Methionine نیدن



أن وجه التشابه بين هذه التفاعلات جميعا هو حاجة كل منها إلى الفيتامين المعروف باسم حمض الفوليك Folic acid والذي يعتبر ضروريا لآتمام بعض خطواتها من ذلك يبدو أن مركب السلفانيلاميد يتدخل فقط في عمليات



تكوين حمض الفوليك بالحلية عن طريق حمض البار — أمينوبنزويك (شكل ٨٢) إذن فتوقف النمو نتيجة لوجود مركبات السلفانيلاميد يرجع إلى حدوث التنافس بينها وبين حمض بارا أمينوبنزويك على سطح الأنزيم ويتوقف بذلك تكون حمض الفوليك اللازم للتفاعلات الحيوية السابق الإشارة إليها .



حمض الفوليك Folic acid

شكل ٨٢ : التركيب الكيماوى لمركبات السلفوناميد . لاحظ ان المركبات تختلف عن بعضها فقط في نوع المجموعة المحمولة على المركب الأساسى مكان «ر» .

هذا وتوقف نمو البكتيريات نتيجة لوجود مركب السلفانيلاميد يمكن الرجوع فيه إذن بطريقة تنافسية بأضافة حمض البار — أمينوبنزويك وبطريقة غير تنافسية بأضافة حمض الفوليك أو نواتج التفاعلات الحيوية التى تتطلب حمض الفوليك كمركب أنزيمى مثل السيرين ، والميثايونين ، والثيمين <sup>t</sup>hymine أو البيورينات كما سبق أن بينا .

وتعتبر مركبات السلفانيلاميد أول المركبات العضوية التركيبية Synfhetie chemotherapeutic agents التي استعملت داخليا في علاج الأمراض البكتيرية داخل جسم العائل. والسبب في ذلك يرجع إلى منعها لتحويلات حمض الباراً — أمينوبنزويك إلى حمض الفوليك بداخل الخلايا البكتيرية بمعنى أن البكتيريات التي تحتاج إلى مصدر خارجي من حمض الباراً أمينوبنزويك أو التي يمكنها تخليقه بنفسها يمتنع نموها كلية في وجود مركبات السلفانيلاميد. وبالرغم من أن خلايا الإنسان والحيوان تحتاج إلى حمض الفوليك إلا أنها لا تتأثر كثيرا في غيابه.

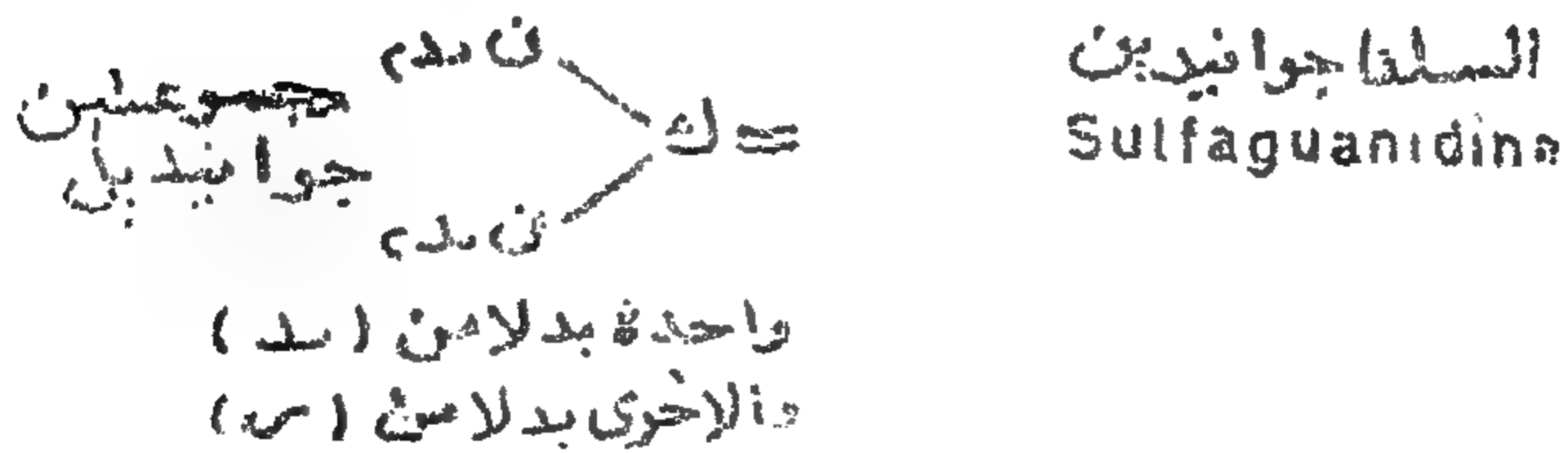
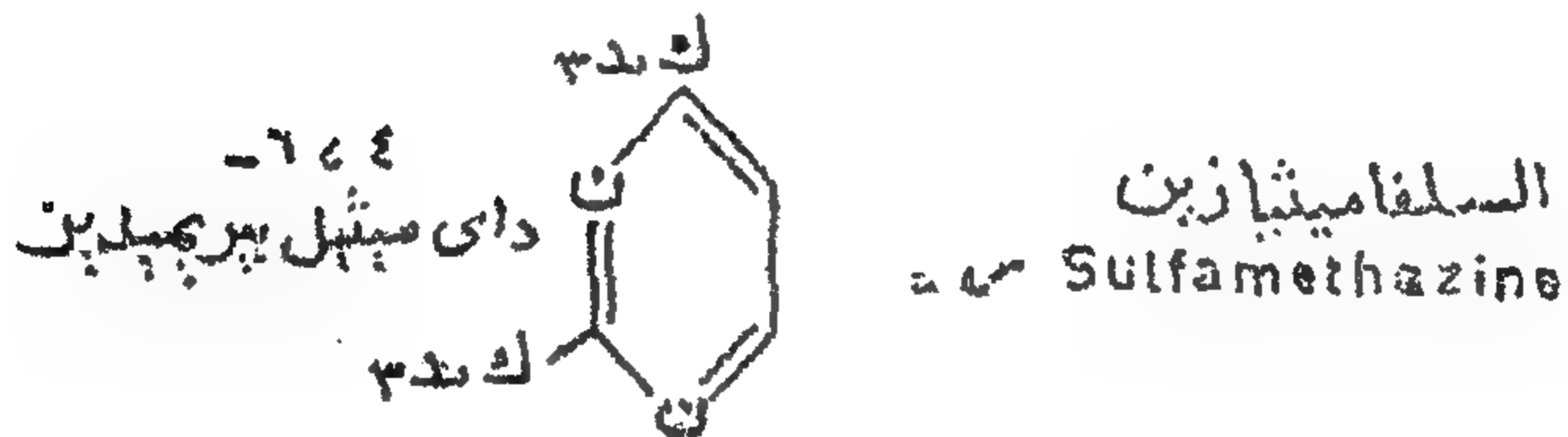
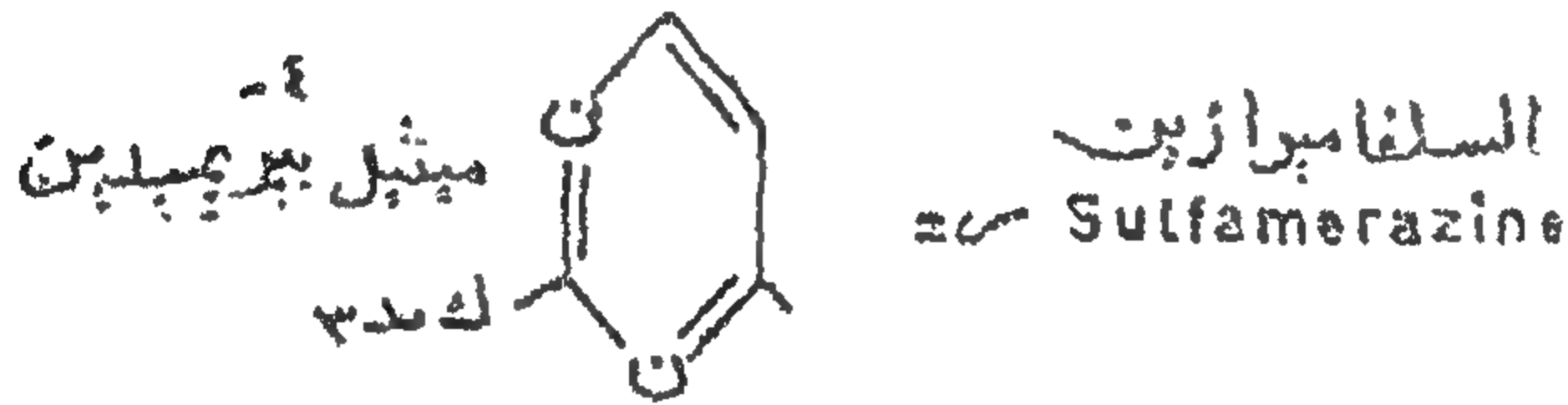
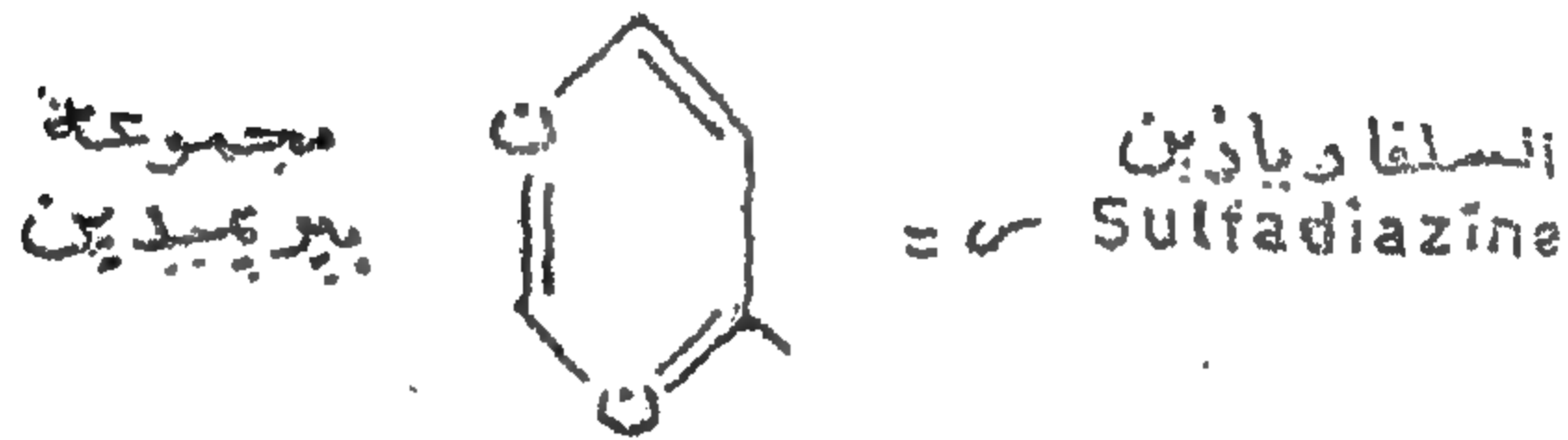
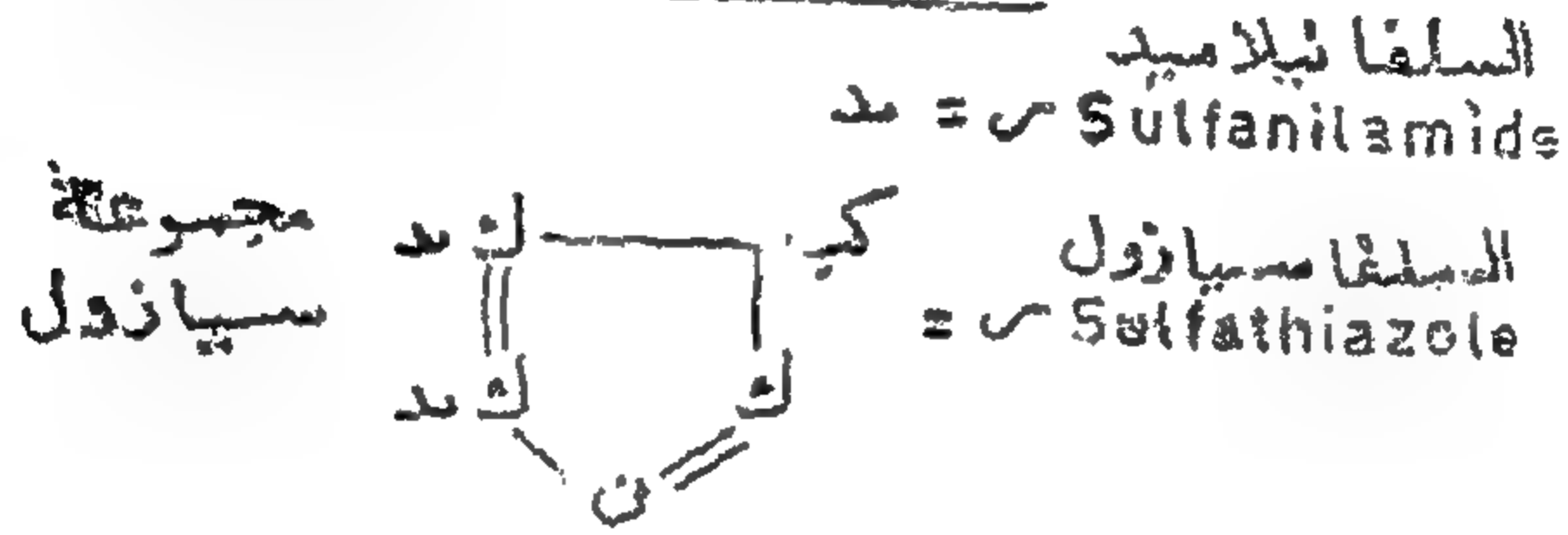
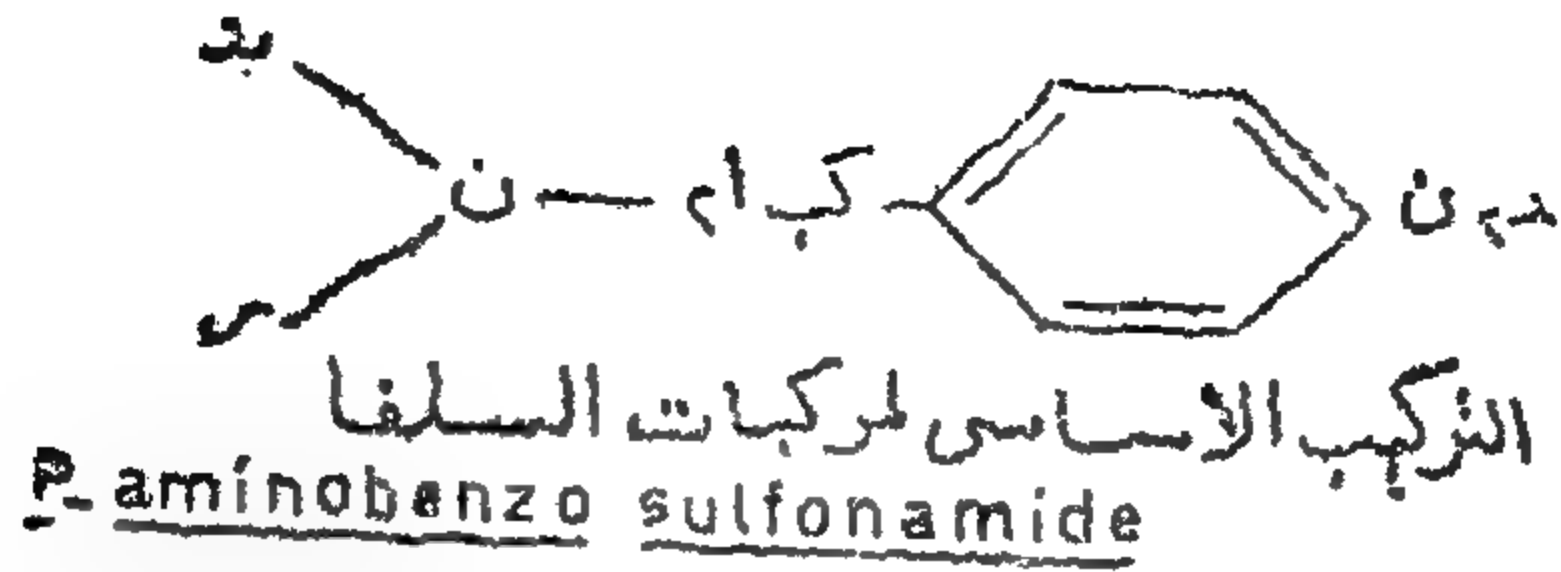
وقد أوجدت عدة مركبات مشتقة من السلفوناميد لاستعمالها داخليا لعلاج كثير من الأمراض الميكروبية. وتركب جميعها أساسيا من المركب المعروف باراً — أمينوبنزين سلفوناميد Para aminobenzene sulfonamide .

ويبين شكل ٨٣ التركيب الكيماوي للمركبات المختلفة من السلفوناميد. وكما سبق أن ذكرنا فقد جربت عدة مواد (غير مركبات السلفا) لغرض استعمالها للعلاج الداخلي بطريقة تنافسية إلا أن غالبتها كانت ذات تأثير ضار بخلايا العائل لذلك أوقف استعمالها.

ويشترط حاليا في المواد التنافسية التي يمكن استعمالها داخليا كمواد علاجية chemotherapeutic agent ما يلي من الصفات :

١ — أن تكون قادرة على إبادة الطفيل أو منع نشاطه دون أن تضر بخلايا العائل ، بمعنى أن لا يكون للتفاعلات التي تعطلها أي تأثير على الخلايا الانسانية أو الحيوانية وكما بينا أن هذا الشرط يتوفر في مركبات السلفوناميد .

٢ — يستحسن أن يكون للمادة القدرة على الامتصاص أو الدخول إلى الخلية البكتيرية بدرجة أكبر من الخلايا الحيوانية . فمثلا فان التفاعلات التي يوقف تقدمها المضاد الحيوى ستربتومايسين (تفاعلات الحلقة التنفسية النهائية



شكل ٨٣ : التركيب الكيميائي لمركبات السلفوناميد . لاحظ أن المركبات تختلف عن بعضها فقط في نوع المجموعة المحمولة على المركب الأساسي مكان ( ر ) :

أعنى دورة كربس) تتم أيضا بداخل الخلايا الحيوانية ولكن قدرة تغلغل هذا السبتر بتومايسن في خلايا الحيوان أقل بكثير عنه في حالة الخلايا البكتيرية. لذلك فإن المناطق الحساسة لفعل هذا المضاد الحيوى بخلايا العائل تكون محمية إلى حد ما من تأثيره الضار .

٣ — أن يكون على درجة عالية من الثبات بحيث لا يفسد من تأثير سوائل الجسم الغنية بالبروتينات أو من درجة حرارة جسم العائل .

٤ — يجب أن لا يتدخل أو لا يؤثر على الطرق الدفاعية لجسم العائل مثل كرات الدم البيضاء ، والأجسام المضادة .

#### المضادات الحيوية : Antibiotics

تحمى الكائنات الحية نفسها في بيئاتها الطبيعية من تأثير فعل الكائنات الأخرى المضادة لها بطرق : تتلخص فيما يلي : تتجمع الكائنات بأعداد كبيرة حتى تستهلك معظم الغذاء المحيط بها لغرض تجويع الكائن الضار أو المضاد لنموها ، أو تزيد من حموضة أو قلوية البيئة المحيطة بها نتيجة لزيادة تجمعها تصبح البيئة عالية الحموضة أو القلوية بدرجة لا تسمح لنمو منافسيها . أو تزيد من الضغط الأسموزى أو التوتر السطحي للبيئة بدرجة لا تسمح لغبرها بالنمو أو تفرز بعض المواد (مضادات حيوية) تتدخل في التحولات الأيضية للكائن المنافس والتي تؤدي إلى منع نموه أو قتله .

المضادات الحيوية عبارة عن مواد كيميائية عضوية تتكون نتيجة للعمليات الأيضية لبعض الأحياء الدقيقة والتي تكون ذات تأثير مبيد أو موقفة لنمو أو نشاط غيرها من الكائنات الحية الدقيقة بتركيزات قليلة ، ويحسن هنا أن نشير إلى أن المواد التي تعرف باسم عاكسات السموم « antitoxins » والتي تتكون بجسم العائل المصاب لغرض تقليل التأثير الضار للطفيل لا تعتبر من المضادات الحيوية .

من مدلول هذه التسمية «مضادات حيوية» يمكن أن نتفهم مدى أهميتها في تنظيم المحتويات الميكروبية للمزارع المختلطة في البيئات الطبيعية .

ولا يوجد من الأدلة ما يكفي للتحقق من تأثير مثل هذه المواد السامة على الكائنات التي تؤثر عليها إلا أنه من المعروف أنها تعمل على بعض المراكز الايضية بالخلايا التي تتأثر بها وهذا قد يوضح التشابه في التركيب الكيماوى بين بعض هذه المواد وبعض المواد الايضية الهامة بالخلايا وليان ذلك نسوق المثال التالى :

وجد أن المضاد الحيوى كاورامفينيكول chloramphenicol يشابه في تركيبه الكيماوى الحمض الأمينى فينيل الانين phenylalanine كما أن اضافة هذا الحمض الأمينى إلى البيئة يمكنه أن يعكس الفعل الضار للتركيزات المنخفضة من المضاد الحيوى المشابه له في التركيب بطريقة تنافسية .

وتستعمل المضادات الحيوية حاليا كنوع من المواد الكيماوية العلاجية التي تنتج طبيعيا natural chemotherapeutic agents في علاج كثير من الأمراض الميكروبية المعدية . وبالرغم من الحقيقة المعروفة من أن بعض هذه المواد قد تصنع تجاريا synthetically prepared على نطاق واسع إلا أن غالبيتها لازالت تحضر تجاريا بالاستعانة بالكائنات الحية الدقيقة القادرة على تكوينها .

ومن الناحية التاريخية نذكر أن ظاهرة التضاد الحيوى بين الكائنات الحية الدقيقة عرفت منذ زمن طويل . وأن كلمة تضاد حيوى antibiosis استعملت لأول مرة بواسطة العالم Vuillemin (١٨٨٩) الذى عرفها بأنها الظروف التى يمكن تحتها لكائن حي إبادة كائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته ووجوده ولا يختلف تعريف فيولمين لهذه الظاهرة كثيرا عن التعريف الحالى والذى أوجده Waksman (١٩٤٥) فى أن هذه الظاهرة ترجع إلى إفراز مواد كيماوية ذات تأثير ضار بالميكروبات .



وقد عرف نشاط المضادات الحيوية منذ مدة طويلة قبل اعطائها تسميتها الحالية فقد تمكن الصينيون القدامى من استعمال معلق حبوب فول الصويا المخمر بفعل بعض الأعفان في علاج الدمامل وجروح الأقدام . كما بين Tyndall (١٨٨١) أن البيئة العكرة المظهر نتيجة لنمو بعض البكتيريات بها تصبح راتقة عندما تنمو الاعفان على سطحها .

وقد لاحظ باستير وجوبيرت Pasteur & Joubert (١٨٧٥) أن خلايا البكتيريا *Bac. anthracis* تختفي من المزارع عندما تلوث ببعض الكائنات الحية الأخرى. كما لاحظ كل من إيميرش ولو Emmerich and Low (١٩١٠) أن حقن بعض من مزارع *Ps. aeruginosa* بجسم أرنب التجارب يحميه من الإصابة بمرض الجمرة الحبيثة .

ومن الملاحظات القديمة عن استغلال ظاهرة التضاد الحيوى للميكروبات فى الأغراض العلاجية ما أشار به ميتكنيوف Metchnikoff (١٨٩٩) فى استعمال البكتيريا التابعة للجنس *Lactobacillus* فى علاج الدوسنتاريا . وتعتبر هذه المحاولة مثالا واضحا للعلاج التبادلى replacement therapy والتي تعنى إضافة أو حقن ميكروب غير ضار ليحل محل ميكروب آخر ضار وممرض ويقضى الأول على الثانى داخل الجسم . واستعمال ظاهرة التضاد حاليا لا تعتمد على طريقة العلاج التبادلى بل على استعمال الجواهر النشط فى التأثير على البكتيريات ، والذي يتم الحصول عليه من ناتج نمو الكائنات التى تعرف بقدرتها على افرازه فى بيئة غذائية مناسبة .

ويعتبر كل من جراثيا وداث Gratia & Dath (١٩٢٤) أول من قام بأبحاث منظمة لدراسة المضادات الحيوية حيث أمكنها اكتشاف مادة الأكتينوميسين Actinomycin التى تفرزها بعض اكتينوميسيتات التربة . ولم يستعمل هذا المضاد الحيوى فى علاج المرضى بل أنه استعمل لمعاملة مزارع البكتيريات خارجيا لتحضير الفاكسينات اللازمة .

وفيا بعد لاحظ العالم فلمنج Alexander Fleming (١٩٢٩) أن مزارع *Staphylococcus aureus* الملوثة ببعض الفطريات أمتنع نموها وتحالت خلاياها نتيجة لنمو تلك الفطريات وإفرازها لبعض المواد السامة، ثم قام بعزل هذه الفطريات للتعرف عليها ودراسة نشاطها. ولما كان الفطر المعزول ينتمي إلى جنس *Penicillium* لذلك أطلق على المضاد الحيوى الذى تفرزه اسم Penicillin ولم يتعرف على أهمية اكتشاف فلمنج لهذا المركب فى علاج أمراض الانسان المعديّة إلا خلال الحرب العالمية الثانية.

وابتداء من عام ١٩٣٩ تمكن بعض الباحثون منهم Dubos (١٩٣٩) من عزل سلالة من البكتيريا *Bacillus brevis* لها القدرة على إفراز بعض المواد السامة للبكتيريا الموجبة لصبغة جرام والتي تتركب من مادتين مضادتين لهذه البكتيريا وهما Gramicidin ، Tyrocidine ، ( Tyrothirin ) .  
واعقب هذا الاكتشاف ما قام به Selman Waksman ومساعدوه (١٩٤٠) من اكتشاف المضاد الحيوى ستربتومايسين .

ومنذ ذلك الوقت اكتشفت مئات من المضادات الحيوية (جدول ١١) ، وأمكن التعرف عليها واستعمل بعضها فى العلاج الداخلى للانسان والحيوان كما أن البعض الآخر قد طور كثيرا من المعلومات المعروفة عن عمليات العلاج الداخلى ، كما أن المزيد وربما المزيد الأفضل من هذه المواد لازالت غير معروفة بعد ، ويبين (جدول ١١) بعض المضادات الحيوية المعروفة حاليا والمستعملة فى العلاج الداخلى للأمراض الميكروبية والكائنات التى تفرزها وتاريخ اكتشافها والمجال الميكروبي التى تؤثر عليه .

وعموما تتميز المضادات الحيوية بقدرتها العالية على إيقاف النمو أو قتل عديد من البكتيريا مع عدم تأثيرها على خلايا العائل المصاب تأثيرا ضارا .

ويجمل بنا أن نشير إلى أن بعض هذه المضادات الحيوية تستعمل الآن فى

علاج الأمراض البكتيرية التي تصيب النباتات أيضا .

وفي كثير من الأحيان تستعمل مخاليط من مضادين حيويين أو أكثر للقضاء على الأمراض التي قد تكتسب متاعاً إذا ما أستعمل مضاداً حيوياً واحداً وللقيام بأجراء المزج يجب أن يراعى عدم تدخل أحد أفراد المخلوط في كفاءة المحتويات الأخرى في إبادة أو إيقاف نمو المسبب المرضي كما يجب أن تكون مكونات المخلوط من المضادات الحيوية مختلفة عن بعضها من الوجهة الكيميائية حتى يكون لكل منها طريقته الخاصة في التأثير على الكائنات الممرضة وكذلك لعدم أقلمة الطفريات المضادة لفعل أحد مكونات المخلوط إذا ما تكونت بجسم العائل .

وعند خلط المضادات الحيوية بمركبات السلفوناميد أمكن الحصول على نتائج علاجية أفضل بكثير من استعمال كل بمفرده .

وتختلف الطرق التي تؤثر بها mode of action المضادات الحيوية على الكائنات الحية الدقيقة . ففي حالة البنسلين يمكن تلخيص الطريقة التي يؤثر بها على خلايا البكتيريا الحساسة لهذا المضاد الحيوى في النقاط التالية : —

١ — وجد أن سلالات من البكتيريا *Staphylococcus aureus*

عندما نمت في وجود البنسلين فقدت قدرتها على تجميع الأحماض الأمينية وخاصة حمض الجلوتاميك . في حين أن السلالات المقاومة للبنسلين من نفس البكتيريا تكون غير محتاجة للأحماض الأمينية التي تعتبر مواد غذائية أساسية للسلالات الحساسة وعلى ذلك فالسلالات التي لا تحتاج لأحماض أمينية كانت مقاومة أما التي تحتاج إلى الأحماض الأمينية فكانت حساسة للبنسلين .

ويعارض ذلك التفسير ما هو معروف أن البكتيريا *Bacillus subtilis* التي يمكنها تخليق الأحماض الأمينية من الأمونيا حساسة للبنسلين .

ب - يثبط البنسلين تكوين الجدار الخلوى وخاصة أنه يتعارض مع ادخال acetyl muramic acid فى بناء الجدار الخلوى . ويعتقد أيضا أن البنسلين يثبط التفاعلات الإنزيمية النهائية التى تربط طبقات الميوكوببتيك خلال الأحماض الأمينية أى تمنع تكوين الروابط العرضية crosslinking التى تربط سلاسل الميوكوببتيد . ولذلك لا يؤثر البنسلين على خلايا العائل مثل الإنسان والحيوان وكذلك على خلايا بعض الكائنات الدقيقة مثل الميكوبلازما لعدم إحتواء خلاياها على الميوكوببتيد .

ح - ثبت أن الخلايا العصبية الحساسة للبنسلين تنتج نتوء فى جدار الخلية والتى تندفع منها السيتوبلازم ويحدث تحلل للسيتوبلازم .

وتوجد مجموعة من المضادات الحيوية يكون تأثيرها عن طريق تثبيط تخليق البروتين فقد وجد أن الإستربتوميسين ونيوميسين والكاناميسين ترتبط بالريبوسوم 30 s مما يؤدى إلى إستطالة elongation السلسلة الببتيدية . وتترا سيكلين يرتبط بالريبوسوم 30 s مما يؤدى إلى تثبيط إرتباط amino acid - t RNA بالريبوسوم . أما الكلواμφينيكول فيرتبط بالريبوسوم مما يؤدى أيضا إلى تثبيط إرتباط amino acid - t RNA بالريبوسوم 50s.S. ولحسن الحظ فإن ريبوسومات الإيو كاريوتات من النوع 80 s والتى تختلف فى تركيبها ولذلك لا تتأثر بمثل هذه المضادات الحيوية . وكذلك فإن الريبوسومات 70 s الموجودة فى بعض مكونات خلايا الإيو كاريوتات مثل الميتوكوندريا فإنها لا تتأثر بهذه المضادات الحيوية .

وتوجد بعض المضادات الحيوية مثل الجريسوفالين تثبط تخليق ال DNA وأنواع أخرى مثل الباسيتريسين Bacitracin وألبوليميكسين تتداخل مع الأغشية السيتوبلازمية مما يؤثر على تركيب الغشاء السيتوبلازمى فيحدث تحرر للبروتينات من الغشاء مما يؤدى إلى فساد الغشاء ويؤدى ذلك لحدوث رشح لمحتويات الخلية ويحدث لها تحلل .

جدول رقم ١١ : بعض المضادات الحيوية المتوفرة حالياً والمستعملة في علاج الامراض  
كروبية التي تصيب الانسان والحيوان والنبات .

م المضاد الحيوى	المصدر	تاريخ اكتشافه	بعض الكائنات التي يؤثر عليها (التهال الميكروبي)
لين Penicillin	<i>Penicillium notatum</i>	١٩٢٩	البكتيريا الموجبة لجرام ، Clostridia و Neisseria و Spirochaetes corynebacteria و Actinomycetes
وثيرين Tyrothirin	<i>Bacillus brevis</i>	١٩٣٩	البكتيريا الموجبة لجرام .
بتومايسين Streptomycin	<i>Streptomyces griseus</i>	١٩٤٤	البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام : <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , اكتنيوميسيتات . ويستعمل حالياً في علاج أمراض النبات البكتيرية له نفس المجال الميكروبي .
Dehydrostreptom	يحضر باضافة الهيدروجين إلى السابق		
ورامفينيكول chloramphenicol	<i>Streptomyces venezuelae</i>	١٩٤٧	بكتيريا موجبة وسالبة لجرام ، الريكتيزيا والفيروسات الكبيرة .
ليميكسين	<i>Bacillus polymyxa</i>	١٩٤٧	بكتيريا القولون ، أفراد جنس <i>Haemophilus</i> ، بعض البكتيريات الكروية Streptococci ، Staphylococci
لوروتراسيكلين Chlortetracycline	<i>Streptomyces aureofaciens</i>	١٩٤٨	بكتيريا موجبة وسالبة لجرام ، ريكتيزيا وفيروسات كبيرة ويستعمل مخلوطا بالستربتومايسين في مقاومة بكتيريا أمراض النبات .
ومايسين Neomycin	<i>Streptomyces fradiae</i>	١٩٤٩	بكتيريات سالبة لجرام فقط ميكروب السل .
وماجلين Fumagellin	<i>Aspergillus sp.</i>	١٩٥٠	البروتوزوا <i>Entamoeba histolytica</i> (الدوسنتاريا الأميبية)



اسم المضاد الحيوى	المصدر	تاريخ اكتشافه	بعض الكائنات التى يؤثر عليها (المجال الميكروبي)
أو كسى تتراسيكلين oxytetracycline	<i>Streptomyces rimosus</i>	١٩٥٠	بكتيريات موجبة وسالبة لجرام <i>Treponema</i> والريكتيزيا
فيومايسين Viomycin	<i>Streptomyces puniceus</i>	١٩٥٠	ميكروب السل، وبعض البكتيريات السالبة لصبغة جرام والتابعة لجنس <i>Bacillus</i>
نيستاتين Nystatin	<i>Streptomyces noursei</i>	١٩٥١	<i>Candida albicans</i> المسبب للأمراض الجلدية وبعض الفطريات الأخرى .
اريثرومايسين Erythromycin	<i>Streptomyces erythraeus</i>	١٩٥٢	بكتيريات موجبة وسالبة لجرام ، ريكتيزيا وفيروسات كبيرة ، مايكوبكتيريا
كاربومايسين Carbomycin	<i>Streptomyces halsdii</i>	١٩٥٢	بكتيريات موجبة لجرام ، ريكتيزيا فيروسات كبيرة .
اتراسيكلين Tetracycline	<i>Streptomyces aureofaciens</i> أو معاملة الكلوروتترا سيكلين بالأيديروجين	١٩٥٣	يؤثر على ما يأتى <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Salmonella typhosa</i> <i>Streptococcus</i> <i>mitis</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Staphylococci</i>
مفومايسين Amphomycin	<i>Streptomyces canus</i>	١٩٥٣	الميكروبات الموجبة لجرام ، كورينى بكتيريا ، <i>Trypanosoma</i>
انسيومايسين Anisomycin	<i>Streptomyces</i> spp.	١٩٥٤	بروتوزوا <i>Entamoeba histolytica</i> (الدوسنتاريا الاميبية)

اسم المضاد الحيوى	المصدر	تاريخ اكتشافه	بعض الكائنات التى يؤثر عليها (المجال الميكروبي)
ولياندومايسين Oleandomycin	<i>Streptomyces antibioticus</i>	١٩٥٤	بكتيريا موجبة الجرام . مايكوبكتيريا . ريكتيزيا . فيروسات كبيرة . بعض البروتوزوا . بعض أنواع <i>Haemophilus Neisseria Brucella</i>
سيكلوسيرين Cycloserine	<i>Streptomyces orchidaceus</i>	١٩٥٥	بكتيريا سالبة الجرام <i>Proteus</i> . <i>Acrobacter Pseudomonas Escherichia</i> وميكروب السل .
نوفوبايوسين Novo-biocin	<i>Streptomyces niveus</i> <i>Streptomyces spheroides</i>	١٩٥٥	<i>Streptococcus Proteus Staph. aureus</i> <i>Diplococcus pneumoniae , faecalis</i>
سيفالوسبورين Cephalosporins	<i>Cephalosporium spp</i>		البكتيريا الموجبة والسالبة للجرام
جريسوفالين Griseofulvin	<i>penicillium griseofulvum</i>		بعض الفطريات
كاناميسين Kanamycin	<i>Streptomyces Kanamyceticus</i>		بكتيريا موجبة الجرام

### مقاومة البكتيريات للمضادات الحيوية :

ان اكتساب مقاومة مزرعة بكتيرية أو أى كائن دقيق آخر للفعل الضار للمضادات الحيوية تعتمد كثيرا على تكوين طفرات مقاومة أو إلى حدوث الانتخاب الطبيعي لسلالة طفرية مقاومة . و كما سيتبين فى الباب التالى فالطفرات عموماً تنشأ تلقائياً spontaneously ويمكن زيادة معدل حدوثها صناعياً بالمعمل induced نتيجة لبعض المعاملات الفيزيائية أو الكيميائية الخاصة .

وحيث أنه يفترض أن المضادات الحيوية تحدث فعلها الضار عن طريق تدخلها فى النظم الانزيمية الخلوية ، فمن المحتمل أن المقاومة تعنى أن خلايا الطفرات المتكونة يمكنها أن تستعوض عن الطريق الانزيمى الذى تعطل بفعل المضاد الحيوى بطريق انزيمى آخر لا يتأثر . وتمثل السلالات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية بعض الصعوبات والمشاكل التى تواجه المشتغلين بعلاج الأمراض الميكروبية وتدفعهم اتباع ما يلى لمنع حدوثها :—

- (١) عدم الاسراف فى استعمال المضادات الحيوية إلا فى الحالات القصوى
- (٢) استعمال الجرعة الكافية للقضاء على العدوى . (٣) استعمال مخاليط المضادات الحيوية التى ثبتت كفاءتها العلاجية كما سبق أن بينا . (٤) استعمال مضاد حيوى آخر فى حالة الشك فى حدوث تأقلم سلالة من المرض مقاومة للمضاد الذى استعمل من قبل ، ويشترط أن يكون المضاد الحيوى الجديد مختلف عن الآخر من ناحية التركيب الكيماوى حتى لا تقاومه السلالة المتأقلمة . (٥) الامتناع عن استعمال المضادات الحيوية الشائعة فى المنطقة والمستعملة بكثرة فى علاج الأمراض المعدية المحلية . (٦) إجراء الاختبارات المعملية السريعة للتعرف على أكفا المضادات الحيوية فى منع نمو الميكروب المسبب للمرض .

وتحدث المقاومة لفعل المضادات الحيوية عادة بين أفراد البكتيريا

Staphylococci, Micrococci وكذلك ميكروب السل ، وبعض أنواع البكتيريا العنوية السالبة لصبغة جرام ، وبعض البكتيريا التي تسبب أمراضا نباتية وخاصة التابعة لجنس *Erwinia* .

الصفات الواجب توافرها في المضادات الحيوية :

سبق لنا أن ذكرنا أن المضادات الحيوية هي مجموعة من المواد العلاجية التي تستعمل داخليا Chemoherapeutic agents ، لذلك يجب أن يتوفر فيها كل مقومات المواد العلاجية والمستعملة لهذا الغرض علاوة على ما يلي من صفات :

١ - يكون لها القدرة على إبادة عدد كبير من الأنواع الطفيلية بمعنى أن يكون لها مجال ميكروبي واسع .

٢ - يجب أن لا يكون لها القدرة على انتخاب سلالات مقاومة لها من الطفيليات .

٣ - يجب أن لا تحدث تأثيرات ثانوية side effects بحجم العائل مثل الحساسية أو التأثيرات السامة ، أو التأثير على الأعصاب . أو تهيج الكلية . أو القناة الهضمية .

٤ - يجب أن لا تقضي على الميكروفلورا الطبيعية للعائل ، أو بمعنى آخر أن لا تؤثر تأثيرا مبيدا شاملا على محتويات القناة الهضمية من الكائنات الحية الدقيقة النافعة ، إذ أن حدوث ذلك يفسد التوازن الطبيعي لهذه الميكروفلورا ويسمح بتأقلم كثير من الكائنات غير المرضية أو المرضية جزئيا والتي كانت الفلورا الطبيعية بحجم العائل تعمل على عدم تأقلمها .

وكما كان المضاد الحيوي ذا مجال ميكروبي واسع ، كلما كانت له القدرة على القضاء على الميكروفلورا الجسمية التي تقوم بتجهيز الفيتامينات اللازمة

للجسم فيشترط عند استعمال مثل هذا المضاد الحيوى إعطاء العائل كميات كافية من الفيتامينات وخاصة تلك التابعة لمجموعة «ب» والتي كانت الفلورا الطبيعية بالقناة الهضمية تقزم بتغليتها .

### ثالثا - الأجسام الكروماتينية أو النواه :

ان المنطقة الثالثة بالخلية البكتيرية والتي تتأثر من فعل المواد الكيماوية السامة هي المحتويات النووية . إذ يمكن أن يحدث لهذه المحتويات تثبيط كيماوى أو يحدث بها تغيرات مميّنة وخاصة لمكوناتها من البروتينات النووية . وقد يؤدى تأثير المادة الكيماوية السامة إلى حدوث طفرات مميتة lethal mutation ويطلق على المواد الكيماوية التي تحدث هذا التأثير اسم المواد التطفرية mutagenic agents أو chemical mutagens ومن هذه المواد مركب الخردل النيتروجينى nitrogen mustard ، والفورمالدهيد ، وكلوريد المنجنيز وفوق أكسيد الايدروجين وغيرها من المواد كما سنبين فيما بعد (الباب الرابع) .

وتأثير هذه المواد على البروتين النووى لازال غير معروف ، إلا أنه من المحتمل أن يكون هذا التأثير نتيجة لحدوث ارتباط بين هذه المواد وبين المجاميع الفعالة من الأحماض النووية المكونة للبروتين النووى مؤدية إلى تغير الصفات الوراثية التي تتحكم فيها ، ولما كان هناك كثير من المواد الكيماوية الأخرى يمكنها الارتباط بالبروتين النووى ولكن ليس لها أى تأثير تطفرى ، إذن فلا بد وأن هذه الكيماويات التطفرية تتفاعل مع ال DNA الخلوى بطريقة خاصة غير معروفة يكون من نتيجتها حدوث الطفرات .



## المراجع

- Albey, A. 1951. Selective toxicity, With special reference to chemotherapy  
Methuen and Co., London.
- First International Conference on the use of antibiotics in Agriculture  
Proceedings, Publication 397. Academy of Science, National Res.  
Council, Washington D.C.
- Grove, Donald C., and W.A. Randall. 1955. Assay methods of antibiotic  
A Laboratory manual of Antibiotics. Monographs No. 2. Medical  
Encyclopedia, Inc. N.Y.
- Glassman, H.N. 1948. Surface active agents and their application in bac-  
teriology. Bac. Rev., 12 : 105.
- Levy, J.J.J.R. Cambell, and T.H. Blackburn. 1973 Introductory Micro-  
biology. John Wiley and Sons, INC. New York. 684 p.
- McCulloch, E.C. 1945 Disinfection and sterilization. Lea and Febiger,  
Philadelphia.
- Mine, R.W., and B. Hennegan. (eds.) 1950. Mechanism and evolution  
of antiseptics. Annals of the New York Academy of Science 53:1-219
- Reddish, G.F. 1957. Antiseptics, disinfectants, and Chemical and physical  
sterilization. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Shive, W. 1950 Inhibition analysis with sulfanilamide, with *E. coli* Annals  
of the New York Academy of Science, 52 : 1212.

Waksman, S.A. 1945. Microbial antagonisms and antibiotic substances.

The Commonwealth Fund, N.Y.

Waksman, S.A. and H.A. Leche Valier 1953. Guide of the Classification and identification of the Actinomycetes and their antibiotics. The Williams and Wilkins Co. Baltimore, Md., U.S.A.

Work, T.C. and E. Work. 1948. The basis of chemotherapy. Interscience Publishers, N.Y.

Wooley, D.W. 1950. Antimetabolites. Annals of the New York Academy of Science, 52 : 1197.

Wood, D.D. 1940. The relation of p-aminobenzoic acid to the mechanism of action of sulfanilamide. British J. Pathol., 21 : 74 - 90.

Wyss, O. 1951. Chemical factors affecting growth and death in C.H. Werkmann and P.W. Wilson (eds.) Bacterial Physiology. Academic Press N.Y.

Wyss, O. 1953. «Symposium on the mode of action of antibiotics» Bact Rev., 17 : 17.

# الباب الرابع

## وراثة البكتيريا

بالرغم من أن الدراسات الوراثية التي تمت على البكتيريا إلا أنها لا زالت تعتبر من أحدث ميادين الدراسة في علوم الحياة التي تقدمت تقدماً ملحوظاً خلال الخمس والثلاثون عاماً الماضية فقد نشر خلال تلك الفترة عدد كبير من الأبحاث التي تعالج الكثير من المواضيع الوراثية للبكتيريا المختلفة والتي أمكن عن طريقها حل كثير من المشاكل البكتيريولوجية المختلفة سواء الطبية منها أم البيوكيميائية أو الصناعية أو الزراعية .

ونظراً للأهمية المتزايدة لهذا الفرع من العلوم فقد بدأ الكثير من جامعات العالم اضافة علم « وراثة البكتيريا » إلى جداول دراستها المتقدمة .

ويرجع السبب في تأخر الدراسات الوراثية في البكتيريا إلى عدم قدرة علماء البكتيريولوجيا القدامى على مشاهدة الجهاز النووي (النواة) بالخلية البكتيرية وبالتالي عدم قدرتهم على مشاهدة محتويات النواة من الكروموسومات للتعرف على شكلها ولتقدير عددها ومعرفة طريقة توزيع العوامل الوراثية عليها . على أن تكاثر البكتيريا يتم عادة عن طريق غير جنسي ، الأمر الذي لا يمكن معه دراسة طرق انتقال الصفات الوراثية من الآباء إلى الأجيال المتعاقبة بطريقة مشابهة لتلك التي تدرس بها في الكائنات التي تتكاثر جنسياً . وبالرغم من عدم اهتمام العلماء القدامى بوراثة البكتيريا للصعوبات السابقة الذكر ، إلا أنهم قد لاحظوا التصنيفات البكتيرية Bacterial variations المختلفة والتي تحدث للمجاميع البكتيرية وكانوا يفسرون حدوثها بمبررات غير وراثية :

ففى خلال الفترة ١٧٤٤ — ١٨٢٩ نادى العالم الفرنسى لامارك Lamark بنظريته عن وراثة الصفات المكتسبة inheritance of acquired characteristics وحاول عن طريقها تفسير حدوث التصنيفات البكتيرية . ولم يكن من المستغرب حينئذ أن تنتشر نظرية لامارك هذه بين علماء البكتيريولوجيا القدامى لغياب غيرها من النظريات المفسرة لظاهرة التصنيفات البكتيرية ومن المقطوع به أن الاختلاف أو التصنيفات الفردية التى تحدث لأفراد المجموع البكتيرى الذى يتكاثر بطريقة لا جنسية وبسرعة فائقة كانت ولا زالت فى كثير من الأحوال تمر دون ملاحظة الباحثين لها ، إلا إذا سمح للخلية المتغيرة بالتكاثر بتهيئة الظروف الملائمة لتكاثرها عدة أجيال حتى يزداد تعدادها وتصبح أكثر وضوحاً . والطرق الدراسية القديمة كانت تسمح فقط بملاحظة التغيرات التى تحدث للمجموع كله دون الأفراد المكونة له وفى ذلك نجحت نظرية لامارك فقط فى تفسير مثل هذه التغيرات الجماعية .

وفى بعد حاول عديد من الباحثين ، تفسير حدوث التغيرات الجماعية population changes هذه بأربع طرق مختلفة .

أولاً : اعتقد كثير من العلماء أن هذه التغيرات الجماعية تحدث نتيجة للتطبع المباشر direct adaptation والذى يتسبب عن تأثير البيئة على كل أو بعض خلايا المجموع .

ثانياً : اقترح البعض الآخر من العلماء أن هذه التصنيفات الجماعية تحدث نتيجة لتغيرات دائمة lasting modifications ، وتنشأ أيضاً تحت تأثير الظروف البيئية . بمعنى أنها تطبع بيئى ولكنه قد يستمر لعدة أجيال بعد زوال العامل البيئى المسبب للتصنيف .

ثالثاً : اعتقد بعض العلماء القدامى أن حدوث التغيرات الجماعية يرجع

إلى إمتلاك البكتيريا لدورة حياة منظمة orderly life cycle بمعنى أن التغيرات التي تشاهد تكون مستقلة تماماً عن البيئة وترجع إلى تناوب الأطوار المختلفة أثناء دورة الحياة .

رابعا : حاول بعض العلماء أن يضع التصنيفات البكتيرية في نفس المستوى مع تلك التي تحدث للكائنات الراقية . وقد نالت التفسيرات التي اتخذت هذا الافتراض أساساً لها تأييداً كبيراً من العلماء ولا سيما عندما سمحت الطرق الدراسية الحديثة بإجراء التجارب العلمية الدقيقة التي أثبتت صحة هذا الاعتقاد ، ومن الطرق البحثية التي أجريت لتأييد هذا الاعتقاد : ( أ ) القدرة على التمييز بين التغيرات التي تؤثر على الخلايا الفردية وتلك التي تؤثر على كل الخلايا المكونة للمجموع . ( ب ) القدرة على التفرقة بين حدوث التغيرات في وجود أو غياب عوامل البيئة . ( ج ) إظهار الزيادة في سرعة حدوث التصنيفات في المجاميع البكتيرية عقب تعريضها للعوامل الطفرية mutagenic agents المختلفة .

ولقد شهد عام ١٩٤٠ والأعوام التالية له التقدم السريع لهذه الدراسات حيث بدأت الدراسات العلمية المنظمة في ميدان الوراثة البكتيرية . هذا والتاريخ العلمي القديم لا يخلو أيضاً من بعض الدراسات التجريبية القيمة من التصنيفات البكتيرية والتي لا تقل أهمية عن الأبحاث والإكتشافات الحديثة .

وسوف نتناول في فصول هذا الباب دراسة لبعض الظواهر الوراثية التي تحدث للمجاميع البكتيرية محاولين الاستعانة بقدر الإمكان بالأبحاث الحديثة التي أجريت على البكتيريات المختلفة .



## الفصل الأول

### التطفر Mutagensis

إن الإنجاء التجريبي نحو دراسة الوراثة بالبكتيريا كان دائماً موجهاً إلى التعرف على قدرة الخلايا البكتيرية على التطفر mutability وإلى التعرف على منشأ الطفرات ومسبباتها وتأثيرها على المجاميع البكتيرية . ومن أهم النتائج التي أسفرت عنها مثل هذه الدراسات إثبات أن التصنيفات الوراثة التي تحدث للخلايا البكتيرية ترجع فعلاً إلى التطفر . كما أمكن تعريف الطفرات البكتيرية شأنها شأن طفرات الكائنات الأكثر رقياً ، بأنها تغييرات تلقائية spontaneous غير موجهة undirected تطراً على ترتيب قواعد البيورينات والبيريميديات في التصميمات الوراثة لتحدث بها تغيير دائم في الصفات الوراثة للخلايا . والطفرات من الظواهر النادرة والقليلة الحدوث فهي تحدث عادة على معدل يتراوح بين  $10^{-4}$  -  $10^{-10}$  لكل خلية بكتيرية لكل جيل . وهذا يعني ، أن خلية واحدة لكل عشرة آلاف خلية أو خلية واحدة لكل عشرة بلايين خلية تكون معرضة لتكوين طفرة .

ويندر مشاهدة الطفرات التلقائية spontaneous mutations ، إلا إذا كانت البيئة الطبيعية وظروفها تسمح لتأقلم الطفرة المتكونة في المجموع الذي تنشأ فيه والا فتكون فرصة بقاء الطفرة وتأقلمها قليلة جداً بحيث تمر دون ملاحظة .

ومعامل التطفر mutation rate يكون عادة ثابتاً لكل عامل وراثي في كل نوع أو سلالة بكتيرية ، فمثلاً معامل تطفر السلالة «ب» من البكتيريا *E. coli* الحساسة للمضاد الحيوى ستربتومايسين إلى سلالة مقاومة لهذا المضاد الحيوى يقدر  $10^{-10}$  ، وإذا أعيد تقدير معدل التطفر تجاه هذه الصفة لعدة مرات وفي أوقات متفرقة كانت النتائج ثابتة دائماً . إلا أن هناك بعض

الظروف البيئية ما يمكنها أن تزيد من معدل التطفر بما يقرب من ١٠ - ١٠٠,٠٠٠ مرة ومثل هذه العوامل يطلق عليها مواد تطفرية أو عوامل تطفرية mutagens أو mutagenic agents . ومن هذه العوامل التطفرية ، الإشعاعات الثابتة كالأشعة السينية ، والأشعة فوق البنفسجية ، والمواد القلوية كالحردل النيتروجيني Nitrogen mustard والحردل الكبريتي Sulfure mustard وهناك بعض عوامل كيمائية أخرى يمكنها أن تؤدي إلى زيادة معدل التطفر منها البيروكسيدات peroxides ، سبق معاملته مثل فوق أكسيد الأيدروجين ، وكذلك المواد المعروفة باسم carcinogenic substances مثل مركبات الأكريفلافين acriflavin وبعض مشتقات البيورينات purines ، وبعض المضادات الحيوية والمواد الكيمائية البسيطة مثل كلوريد المنجنيز وحمض النتروز أو الأكثر تعقيداً مثل بعض الأصباغ كصبغات الإكريدن ، يوراثان والهيدروكسال أمين .

كما لوحظ أن معاملة بيئة الزرع بالأشعة البنفسجية أو بمادة فوق أكسيد الإيدروجين قبل تلقيحها بالبكتيريا تزيد أيضاً من معدل التطفر . ويعتقد أن هذه المعاملات تؤدي إلى تكوين أو زيادة البيروكسيدات بالبيئة وهذه في حد ذاتها مواد تطفرية .

وعند تعريفنا للطفرات ذكرنا أنها غير موجهة undirected وهذا يعني أنها تحدث مستقلة تماماً عن ظروف البيئة التي توافق نموها وتأقلمها . من ذلك نرى أن الطفرات التي تنشأ وتكون مقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين تحدث في المجاميع البكتيرية التي تنمو في غياب هذا المضاد الحيوى . ولكن لانتخاب أو لعزل مثل هذه الطفرات يجب تعريض المجموع المحتوى عليها لتأثير هذا المضاد الحيوى . وتحت هذه الظروف فإن خلايا المجموع الأصلي الحساسة لتأثير المضاد الحيوى تفشل في النمو في وجوده في حين أن الطفرة أو ناتج نموها يمكنها النمو تحت هذه الظروف نظراً لمقاومتها له ،

وتعرف مثل هذه البيئة كما سبق أن بينا ببيئة الانتخاب selective medium .  
ومثل هذه الطرق الانتخائية لها أهمية كبرى في إظهار الطفرات التلقائية  
التي تنتج طبيعياً .

### الأدلة على حدوث الطفرات بالخلايا البكتيرية

بالرغم من قيام علماء الوراثة بإجراء دراسات متشعبة على التطفر في  
الكائنات الحية الراقية خلال نصف القرن الماضي إلا أن الدراسات على  
الطفرات البكتيرية التلقائية وغير الموجهة لم يبدأ إلا في عام ١٩٤٣ عندما  
قام لوريا ودلبروك Luria & Delbruck بنشر إختبارهما المشهور والمعروف  
باسم إختبار التذبذبات fluctuation test وتبعهما في ذلك نيوكومب  
Newcombe (١٩٤٩) باعطاء دليل آخر على حدوث التطفر التلقائي غير  
الموجه بالبكتيريا .

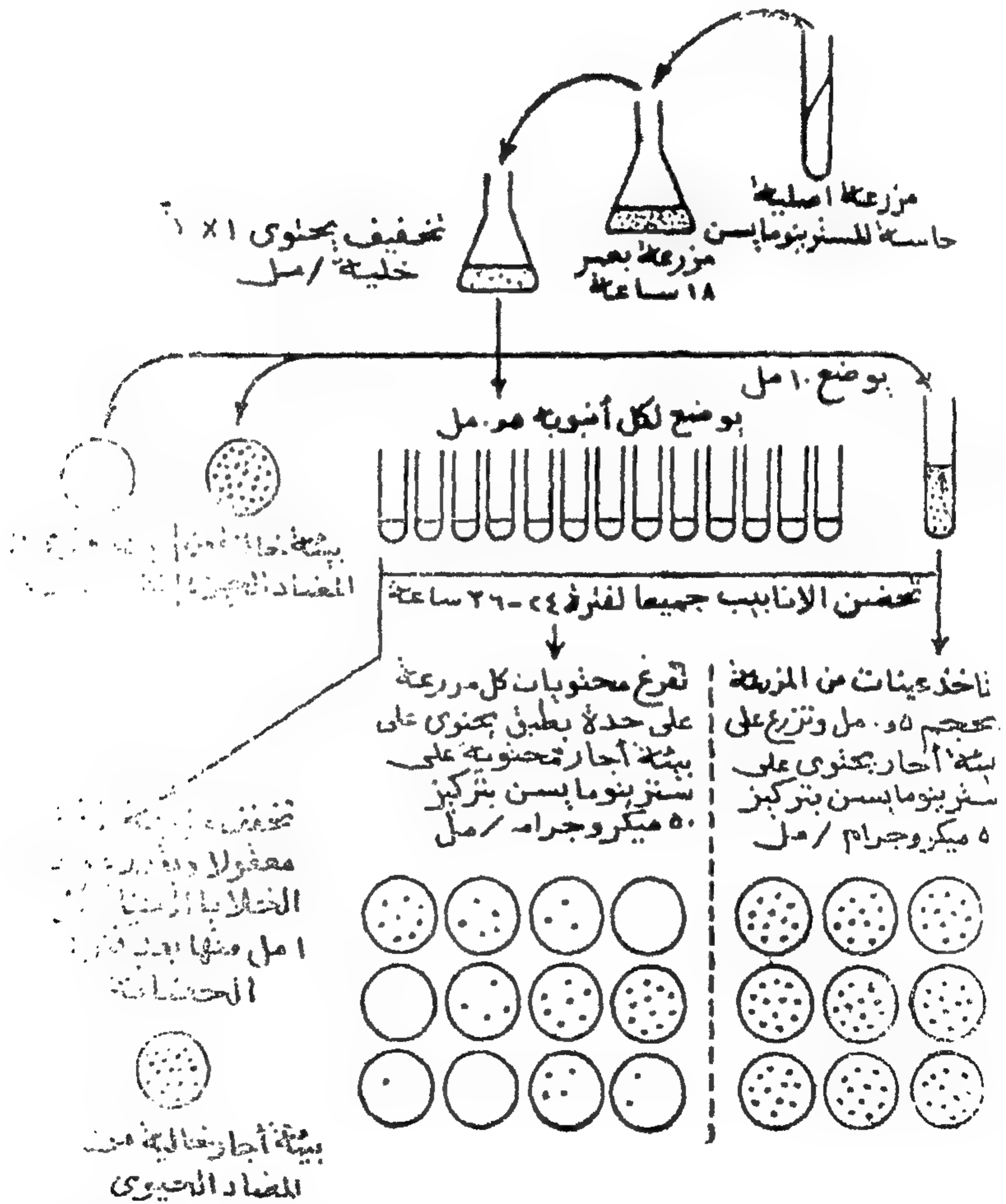
#### إختبار التذبذبات : fluctuation test

إن تعداد الخلايا المتغيرة التي تتكون في مجموع بكتيري معين ممثل في  
عدة مزارع متشابهة ومنفصلة يختلف بدرجة واضحة إذا ما قورن بتعداد  
الخلايا المتغيرة في نفس المجموع عندما تؤخذ عدة عينات من المجموع النامي  
في مزرعة واحدة . ويفترض لوريا ودلبروك في إختبارهما أن هذه التذبذبات  
وعدد الخلايا المتغيرة في المزارع المنفصلة والمتشابهة هي نتيجة لحدوث  
الطفرات التلقائية في المجموع وتتلخص خطوات هذا الإختبار فيما يلي :

١ - تحضر مجموعة من الأنابيب الصغيرة كل منها تحتوي على ٥ مل  
من بيئة سائلة ثم تلقح بكمية صغيرة موحدة من سلالة البكتيريا المراد دراستها،  
 والمعروفة بحساسيتها للمضاد الحيوى ستربتومايسين . توضع هذه المزارع  
 بالحضان لتتبع الخلايا نتيجة لدرجة معقولة من التعكير للبيئة .

٢ - يقدر عدد الخلايا المقاومة للمضاد الحيوى (الطفرات) والتي

يمكن أن تتواجد في كل مزرعة على حدة ويجرى ذلك بصب محتويات كل أنبوبة فوق سطح بيئة آجار محتوية على تركيز معلوم من المضاد الحيوى (٥٠ ميكروجرام/مل). ويمكن مقارنة النتائج المتحصل عليها من هذه التجربة بتلك المأخوذة من عينات متساوية في الحجم (٠.٥ مل) والتي تؤخذ من مزرعة واحدة تحتوى على نفس عدد الخلايا للمليتر الواحد. ولتوحيد عدد الخلايا



شكل ٨٤ : رسم تخطيطى يبين الخطوات المتبعة في اختبار التذبذبات fluctuation test لعطرات البكتيريا *E. coli* المقاومة للمضاد الحيوى سريبتومايسين .

تلقح المزرعة الواحدة بكمية متناسبة ومشابهة في تعداد خلاياها في المليلتر الواحد وتترك بنفس الحضان لنفس فترة الحضانة . وشكل ٨٤ يوضح الخطوات المختلفة في اجراء هذا الاختبار .

والفكرة من الاختبار هي محاولة التحقق من الافتراضات الآتية :

(١) إذا كانت المستعمرات المشاهدة والمقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين تتكون فقط نتيجة لوجود المضاد الحيوى بالبيئة ( عملية تطبع ) فانه لا يجب أن يكون هناك اختلافات في عدد المستعمرات المقاومة للستربتومايسين سواء أخذت العينات من مزارع منفصلة أو من مزرعة واحدة .

(ب) إذا كانت المستعمرات المقاومة للمضاد الحيوى تتكون قبل تعرضها للمضاد الحيوى (تطفر تلقائى) فان المزارع المنفصلة والمتشابهة سوف تعطى نتائج تختلف عن تلك الناتجة من مزرعة واحدة . ومن الملاحظ أن المزارع المستقلة لا تختلف عن بعضها فقط في عدد المستعمرات الطفرية . ولكنها تختلف أيضاً في الوقت الذى تحدث فيه الطفرات أثناء نمو هذه المزارع . فمثلاً إذا تكونت طفرة واحدة قبل وقت التعريض للمضاد الحيوى مباشرة فان المزرعة سوف تظهر مستعمرة مقاومة واحدة أما إذا تكونت الطفرة قبل وقت التعريض بمدة تقدر بعدة أجيال فان الخلية الواحدة المتطفرة تكون قد أعطت عدداً مختلفاً من الخلايا والتي يعطى كل منها مستعمرة على البيئة المحتوية على المضاد الحيوى . من ذلك نرى أنه حتى إذا تكون في المزارع المستقلة عدد متساو من الطفرات فانه من المتوقع أن يختلف عدد الخلايا المقاومة بكل مزرعة مستقلة عند وقت التعريض إلى المضاد الحيوى وأن هذا لا يحدث في العينات التى تؤخذ من مزرعة واحدة حيث أن عدد الخلايا المقاومة يكون في هذه الحالة متساوياً تقريباً في كل العينات التى تؤخذ منها .



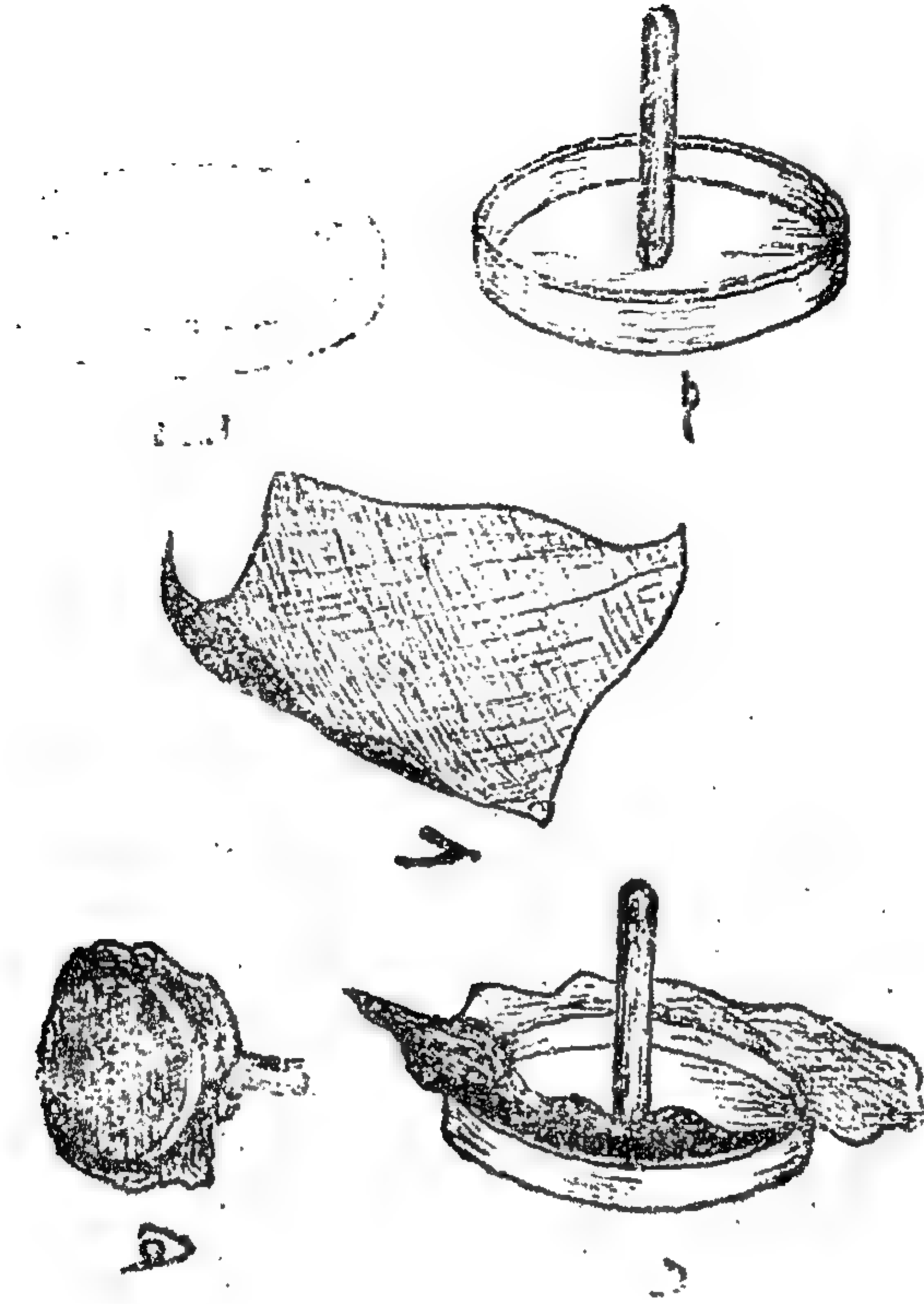
وقد أظهر التحليل الإحصائي للنتائج التي تمحصل عليها لوريا ودلبروك جدول ١٢ أن هذا صحيح حيث كانت جملة الاختلافات variance في عدد الخلايا المقاومة للمضاد الحيوى في حالة المزارع المستقلة (٢٩١٣,٩) أى أكبر بكثير منها في حالة العينات المتشابهة والمأخوذة من مزرعة واحدة (١٥١,١) وهذا يؤيد النظرية الافتراضية بأن الطفرات تحدث تلقائياً بعيداً عن العامل المشجع لنموها أو بمعنى آخر أن ظهور هذه الخلايا المقاومة لا يرجع إلى ظاهرة التطبيع .

وقد قام Newcombe (١٩٤٩) بإجراء تجربة مماثلة باستعمال البكتيريا *E.coli* لإثبات حدوث الطفرات المقاومة لتأثير الفيروس البكتيرى  $T_1$  تلقائياً . وتمكن من اثبات أن هذه الطفرات تحدث تلقائياً قبل تعريض الخلايا لتأثير الفيروس البكتيرى وأن وجود الفيروس البكتيرى يعمل فقط على انتخاب هذه الطفرات التي تكون قد نشأت من قبل وفي غيابه وبعيداً عنه .

وفيما بعد أوجد Lederberg (١٩٥٢) طريقة بسيطة تعرف بطريقة الانتخاب غير المباشر indirect selection test أمكن بواسطتها إثبات حدوث الطفرات تلقائياً بعيداً عن الظروف الانتخابية لها (كالمضاد الحيوى أو الفيروس البكتيرى) والتي تمنع تكاثر خلايا الآباء الحساسة وتسمح بنمو خلايا الطفرات المقاومة لها فقط . وحيث أن معظم الطفرات تنشأ بمعدل يتراوح بين  $10^{-10}$  إلى  $10^{-11}$  كما سبق أن بينا . فإنه يلزم منع نمو الخلايا الأصلية الحساسة والكثيرة العدد إذا أريد مشاهدة الخلايا الطفرية قليلة العدد . ولعزل الطفرات التلقائية مباشرة تمكن ليدربرج (١٩٥٢) من إيجاد طريقة بسيطة تسمح بنقل أو بطبع المستعمرات النامية على الطبق الأصلي ، في نفس مواضعها ، على عدد من الأطباق المحتوية على بيئات انتخابية ، وتعرف هذه الطريقة بطريقة الطبع المتكرر بالأطباق Replica plating . وتم عملية النقل أو الطبع بالاستعانة بقطعة من قماش

جدول رقم ١٢ : عدد الخلايا المقاومة للاستربتومايسين (٥٠ ميكروجرام / مل) لعينات مأخوذة من مزارع مستقلة ، وعينات مشابهة مأخوذة من مزرعة واحدة .  
(تعداد الخلايا بعد النمو في كل حالة ١,٣ × ٨١٠ خلية / مل)

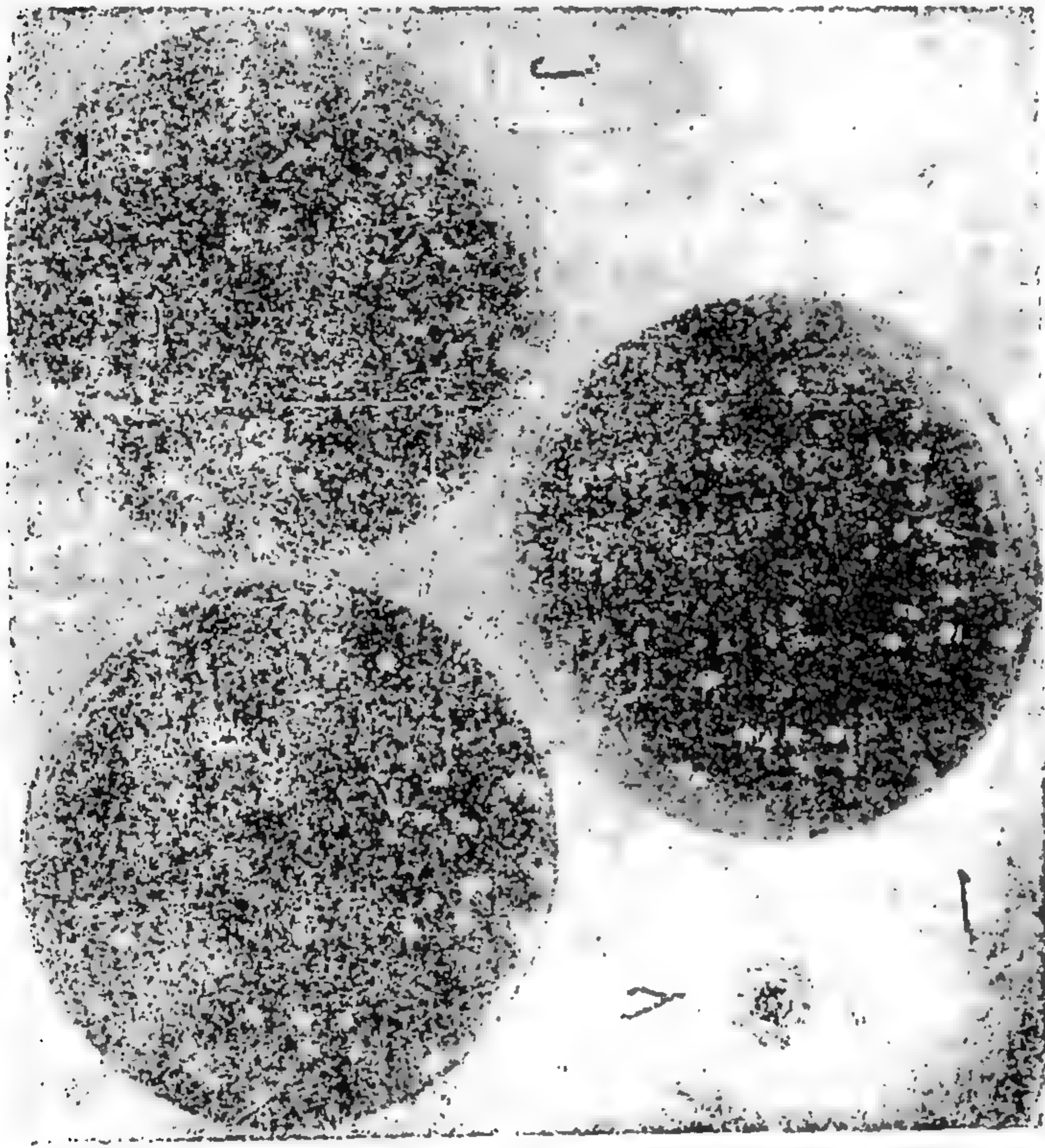
عينات مأخوذة من مزرعة واحدة				عينات المزارع المستقلة			
عدد المستعمرات المقاومة	نمرة العينة	عدد المستعمرات المقاومة	نمرة العينة	عدد المستعمرات المقاومة	نمرة المزرعة	عدد المستعمرات المقاومة	نمرة المزرعة
١١٠	١١	١٤٢	١	٥٦	١١	٦٧	١
١٢٥	١٢	١٥٥	٢	٩١	١٢	١٥٩	٢
١٣٥	١٣	١٣٢	٣	١٢٣	١٣	١٣٥	٣
١٢١	١٤	١٢٣	٤	٩٧	١٤	٢٩١	٤
١١٢	١٥	١٤٠	٥	٤٨	١٥	٧٥	٥
		١٤٦	٦	٥٢	١٦	١١٧	٦
		١٤١	٧	٥٤	١٧	٧٣	٧
		١٣٧	٨	٨٩	١٨	١٢٩	٨
		١٢٨	٩	١١١	١٩	٨٦	٩
		١٢١	١٠	١٦٤	٢٠	١٠١	١٠
المتوسط ١٣١,٢				المتوسط ١٠٥,٩			
الاختلافات variance ١٥١,١				الاختلافات variance ٢٩١٣,٩			
اختبار (chi) ١٧,٣				اختبار (chi) <sup>2</sup> ٥٥٠,٣			
قيمة P ٠,٢٦				قيمة P أقل من ٠,٠٠١			



شكل ٨٥ : الأجزاء المختلفة لوحدة طبع المستعمرات البكتيرية بطريقة الطبع المتكرر بالأطباق . أ - قرص خشبي يقل قطره قليلا عن قطر طبق بترى . ب - حلقة معدنية لتثبيت قطعة القطيفة جـ بالقرص . د - قطعة القطيفة مثبتة في وضعها النهائي ، هـ - منظر جانبي لوحدة الطبع .

القطيفة velveteen المعقمة والمثبتة على اسطوانة خشبية أو معدنية ذات قطر أقل قليلا من قطر أطباق بترى ( شكل ٨٥ ) . وتستعمل عادة حلقة مطاطية أو حلقة معدنية لتثبيت قطعة القطيفة جيداً على الاسطوانة . وعندما يوضع القرص فوق سطح الطبق الأصلي تتلاصق كل المستعمرات وتنتقل كمية من كل مستعمرة إلى قطعة القطيفة التي تصبح كأنها نسخة

(أو اكليشه) يمكن طبعه بدون تحريك أو تغيير لوضعه على سطح الآجار في عديد من الأطباق الأخرى المحتوية على البيئة أو البيئات الانتخابية المرغوبة . والنمو الناتج بالأطباق عقب إجراء التلقيح بهذه الطريقة يسفر عن مستعمرات متطابقة وفي نفس الأماكن التي كانت عليها في الطبق الأصلي . وعن هذا الطريق أمكن إثبات أن التصنيفات البكتيرية كما سبق أن بينا تحدث نتيجة



شكل ٨٦ : طريقة الطبع المتكرر بالأطباق ، أ - الطبق الأصلي المحتوى على بيئة كاملة .  
ب - نسخة من الطبق الأصلي على نفس البيئة ، ج - نسخة من الطبق الأصلي على بيئة الحد الأدنى .  
(الأسهم في طبق ب تشير إلى مستعمرات ( auxotrophic ) لم تظهر على بيئة الحد الأدنى في الطبق ج . لاحظ وجود هذه المستعمرات بالطبق الأصلي أ . وهذا يبين أن المستعمرات المشار إليها بالأسهم في الطبق ب و لم تنمو على بيئة الحد الأدنى بالطبق ج - مستعمرات طفرية ناقصة القدرة التخليقية ( auxotrophs ) .



للتطفر التلقائي وأن هذه الطفرات تنشأ مستقلة عن الظروف البيئية التي تتناسب مع تأقلمها . فمثلاً إذا نما مجموع بكتيري حساس لتأثير الفيروس البكتيري على بيئة الآجار المغذى ثم لقحت مستعمراته بطريقة الطبع المتكرر على بيئة تحتوي على الفيروس البكتيري ، فإن المستعمرات المقاومة لتأثيره تظهر على سطح البيئة وتكون في مواضع متطابقة مع تلك التي يمكن الرجوع إليها ومقارنتها بالطبق الأصلي في غياب الفيروس البكتيري . ويمكن عقب ذلك عزل سلالات مقاومة للفيروس البكتيري من الطبق الأصلي والتي تكون نامية على بيئة الآجار المغذى الحالية من الفيروس (شكل ٨٦) .

الآن وقد استعرضنا الأدلة على أن الطفرات تنشأ تلقائياً في الطبيعة ، قد يتساءل البعض عن السبب في حدوثها ؟ وفي الحقيقة يعرف القليل عن سبب حدوث ظاهرة التطفر *mutagenesis* بالطبيعة إلا أن هناك عدة تكهنات من أهمها وجود الإشعاعات الطبيعية وبخاصة الأشعة الكوزمية *Cosmic rays* (٢٠٠ - ٢٥٠ ميلي ميكرون) والتي تصل إلى سطح الأرض . وكذلك قد يكون للتقلبات الجوية من حرارة ورطوبة وجفاف تأثير على التوازن في كمية الطاقة التي تميز العوامل الوراثية في الخلايا مما يؤدي إلى تغييرها وبالتالي حدوث الطفرات .

### الأساس الجزيئي للتطفر

من المعروف من الناحية البيوكيميائية أن الطفرات التلقائية تنشأ في المجموع البكتيري نتيجة لحدوث تغييرات في تنظيم جزيئات الـ DNA في الخلية المتطفرة . فعلى سبيل المثال قد تستبدل بعض القواعد البيورينية أو الباريميدينية الأصلية بقواعد أخرى في جزيء الـ DNA في الخلية المتطفرة وقد يحدث التطفر أيضاً نتيجة لاستبعاد واحد من النيوكليوتيدات المكونة لسلسلة الـ DNA أو نتيجة لكسر ولحام جين معين واستبعاد جزء منه عقب الإلتحام . وقد تحدث



الطفرات أيضاً نتيجة لإضافة نيوكليوتيدات جديدة إلى سلسلة الـ DNA المكونة للجين مما يؤدي إلى تغيير تتابعها المعتاد بداخل الجين . والإضافة أو النقص في النيوكليوتيدات يؤثر عند تكاثر سلاسل DNA مما ينتج عنه شفرة جديدة .

كما قد يحدث في بعض الأحيان أخطاء غير مقصودة أثناء تضاعف سلاسل الـ DNA تؤدي إلى تغيير في تركيبه . هذا ومعدل حدوث مثل هذه التغييرات في تركيب جزيء الـ DNA يتوقف كثيراً على الظروف البيئية مثل درجة الحرارة وقيمة الـ pH وتركيب بيئة الزرع وما إلى ذلك . كما أن معدل حدوث مثل هذه التغييرات قد يزداد نتيجة للتعرض إلى واحد أو أكثر من العوامل التطفرية السالفة الذكر . هذا والتعرض للإشعاعات مثل الأشعة فوق البنفسجية أو الأشعة السينية قد يؤدي إلى حدوث روابط كيميائية لم تكن موجودة أصلاً بين النيوكليوتيدات المتجاورة في سلاسل جزيء الـ DNA . فعند ارتباط اثنين من القواعد البازيميدية والمكونة لسلسلة الـ DNA ينشأ عن ذلك ما يعرف بالثنائيات dimer ويعتبر المركب ثنائي الشمين أكثرها حدوثاً وهو المادة التي تعترض فعل الإنزيم الـ DNA polymerase ونتيجة لذلك تمنع عملية تضاعف سلاسل الـ DNA .

وقد سبق لنا أن بينا في مكان آخر من هذا الكتاب أن الضوء المرئي يمكنه أن يعكس الفعل الضار للأشعة فوق البنفسجية للخلايا البكتيرية بما يعرف بظاهرة التنشيط الضوئي .

وعوامل التطفر الكيميائية قد تؤثر على أحد قواعد البيورينات أو البازيميدات فتتمنع ازدواجها مع القاعدة المكتملة عند تضاعف سلاسل DNA فعلى سبيل المثال فإن المعاملة الكيماوية قد تغير من خواص الرابطة الهيدروجينية في قواعد الـ DNA وإن هذه الروابط الهيدروجينية تعتمد على المجاميع الأمينية والكربوكسيلية في البيورينات والبازيميدات اذن فأى تغيير في هذه الروابط الهيدروجينية يؤدي إلى زيادة احتمال حدوث التطفر .

وهناك بعض المواد الكيماوية البسيطة المتطفرة لها قدرة على إحداث تحوير في قواعد الـ DNA الحلوى ومن أمثلها حمض النتروز (يدن ٢١) فهي تعمل على إزالة مجاميع الأمين بطريقة تأكسدية وبذلك تحدد قابليتها للإزدواج . فمثلا عند إزالة مجاميع الأمين من مركب الأدنين يتحول إلى مركب آخر هو هيپوزانثين Hypoxanthin وهذا يفقد قدرته على الإزدواج مع الثايمين .

وهناك بعض المواد الكيماوية التي تشبه القواعد الأساسية من البيورينات والبايريميديونات وهي بذلك قد تدخل في تركيب الـ DNA بدلا من القواعد الأصلية بطريق تنافسي . وحيث أن المواد المشابهة هذه ليس لها نفس الخواص الموجودة في القواعد الأصلية فإن DNA لا يتضاعف بطريقة طبيعية وبذلك تتوقف الخلية عن النمو نتيجة لتكوين طفرات مميتة . ومن أمثلة هذه المواد مادة برومويوراسيل 5 Bromouracil الشبيهة بقاعدة الثايمين وهي تستعمل في معالجة الأورام السرطانية .

وقد يستفاد من هذه المعلومات في اختبار قدرة المواد الكيماوية على إحداث السرطان . فالمادة الكيماوية التي لها القدرة على إحداث التطفرة يعتقد ضمناً أنها قادرة على إحداث السرطان .

ومن المعروف أن اختبار القدرة الكامنة لمركب لينتج السرطان في حيوانات التجارب من ٢ - ٣ سنوات ويتكلف حوالى ١٠٠٠٠٠ دولار . وحديثاً إبتكر الدكتور بروس إيمز Dr. Bruce Ames بجامعة كاليفورنيا بيركلى اختبار بسيط لمعرفة القدرة الكامنة في مادة كيماوية لتحداث السرطان . ويستغرق هذا الاختبار ثلاثة أيام ويتكلف حوالى ٢٠٠ دولار . ويمتاز هذا الاختبار بالسهولة والسرعة والحساسية وقلة التكاليف .

والإختبار مبنى على حقيقة وهي أن التغير في الـ DNA لطفرة يمكن أن يحدث وتتحول إلى خلية تشبه الخلية الطبيعية الأصلية أن الطفرة تترد .

و ثبت تجريبياً أن أكثر من ٩٠ ٪ من المواد المختبرة والتي تحدث السرطان تعتبر أيضاً عوامل تطفر .

ويتم إختبار إيمز ببساطة بتقدير المعدل الذى تترد عليه طفرات محتاجة غذائياً Auxotrophs (تحتاج إلى الهيستدين) إلى السلالة الأصلية غير المحتاجة غذائياً prototrophe من بكتيريا تابعة لـ Salmonella فى وجود وغياب المادة المختبرة . وأن الإختبار يعطى أيضاً فكرة عن قدرة المادة فى إحداث الطفرات وبالتالى مدى الخطورة الكامنة فى هذه المادة عن طريق تقدير عدد الخلايا المرتدة المتكشفة فكلما كانت قدرة العامل التطفرى كبيرة فانه يزداد عدد الخلايا المرتدة .

ويجب إجراء إختبارات أخرى على العوامل التطفرية والتي يفترض أنها عوامل سرطانية للتأكد من ذلك فى الحيوان . وقد إختبر الدكتور إيمز أكثر من ٣٠٠ مركب كىماوى لإختبار قدرتها على أن تحدث طفرات بعض منها فى الجدول رقم ١٣ .

جدول رقم ١٣ : إختبار بعض المواد الكيماوية لنشاطها التطفري أو السرطاني .

المادة	استعمالها	إختبار إيمز (تطفري)	الإختبار في الحيوان
كلوريد الفينيل	الصناعة الكيماوية	+	+
كابتان	مبيد فطري	+	+
ديلدرين	مبيد حشري	—	+
سيفين	مبيد حشري	—	—
السيجاير (دخان مكثف)	للمتعة	+	+
فينوباربيتال	عقار	—	ضعيف
نيكوتين	دخان	—	—
كافاين	البن	—	تحت الإختبار
كبريتات الأتروبين	في الطب	—	تحت الإختبار
Medium golden (Brown No. 612)	صبغة شعر	+	لم يختبر
Moon Haze No. 32.	صبغة شعر	+	لم يختبر

معدل التطفر : Mutation rate

إن المعدل الذي يحدث عليه التطفر التلقائي يكون عادة ثابتاً لأي صفة من صفات النوع البكتيري الواحد . وعادة يعبر عن معدل التطفر التلقائي كما يلي (معدل التطفر / خلية بكتيرية / دورة إنقسامية) . ولما كان معدل التطفر أو معدل تغير صفة من الصفات (جين من الجينات) يكون أيضاً ثابتاً باستمرار فالمعدل الذي يحدث عليه التطفر في صفة من الصفات يعتر في حد

ذاته من الصفات الوراثية ويكون متوقفاً على الجين المسئول في التركيب الوراثي للكائن المتطفّر .

وقد إتبع لوريا ودلبروك (١٩٤٣) طرقاً حسابية لتقدير معدل التطفّر وذلك على أساس :

- ١ — إستعمال مزارع ناتجة عن خلايا من سلالات غير متطفرة Wild type
- ٢ — حاول الإحتفاظ بالمزارع في الطور اللوغاريتمى عن طريق إجراء تخفيضات متتالية .
- ٣ — يجب أن يتساوى معدل نمو الخلايا الأبوية غير المتطفرة مع معدل نمو خلايا السلالات الطفرية .

٤ — استبعد كلية احتمال حدوث طفرة رجعية back—mutation

إذا بدأنا تحت الظروف المذكورة بعدد من خلايا من الطراز الطبيعى يقدر بـ ( ١ ) فإن نسبة الطراز التطفري في هذا المجموع = صفر . فإذا افترضنا أن التطفّر يحدث في هذه الخلايا على معدل = م . فإن مجموع الخلايا بعد جيل واحد سيصبح ١٢ ويوجد ضمن هذا العدد من الخلايا عدد ١٢م خلية طفورية وبذلك يكون عدد الخلايا الطبيعية = ١٢ — ١٢م وبالتالي تكون

$$\text{نسبة الخلايا الطفرية بعد جيل واحد} = \frac{١٢م}{١٢} = م$$

ونظراً لأن م عددها بسيط فيمكن تجاهلها ونعتبر أن ١٢ — ١٢م = ١٢ تقريباً . ولذلك يمكن اعتبار ١٢ ممثلاً لعدد الخلايا الطبيعية .

وإذا استمر الإنقسام إلى الجيل الثانى فإن المجموع الكلى سيكون ١٤ ويصبح عدد الخلايا الطفرية ١٤ م وذلك بالإضافة إلى ما كان موجوداً أصلاً ونتيجة لإنقسام ١٢ م طفرة خلال الجيل الأول سيصبح ١٤ م .



$$\frac{م١٤ + م١٤}{١٤} = \text{وبذلك تصبح نسبة الخلايا الطفرية في المجموع}$$

$$\frac{(م + م) ١٤}{١٤} =$$

$$م٢ =$$

بعد الجيل الثالث سيكون العدد الكلى للخلايا = ١٨ وستكون هناك ١٨ م خلية طفرية ناتجة عن التطفر الجديد بالإضافة إلى ١٦ م خلية طفرية ناتجة عن انقسام الخلايا الطفرية القديمة وبذلك تصبح نسبة الخلايا الطفرية في المجموع

$$\frac{م١٨ + م١٦}{١٨} =$$

$$م٣ = \frac{(م٢ + م) ١٨}{١٨} =$$

وبعد ٤ أجيال ستكون النسبة

$$م٤ = \frac{م١٤٨ + م١١٦}{م١١٦} =$$

وبعد ن من الأجيال فإن نسبة الخلايا الطفرية للمجموع ستكون م × ن (عدد الأجيال) وتصبح المعادلة النهائية كالتالى :

$$\frac{\text{نسبة الخلايا الطفرية}}{\text{عدد الأجيال}} = \text{معدل التطفر (م)}$$

وعدد الأجيال يمكن تحديده بسهولة فى المزرعة كما سبق وحيث أن استعمال اللوغاريتم الطبيعى للرقم ٢ يعتبر كعامل مصحح لمتوسط عدد الخلايا بالمجموع ونظراً لأنه فى بعض الأحيان يتعذر الحصول على مجموع خالى تماماً من الطفرات فيفترض انه بدأ بمجموع (١١) يحتوى على (م١) من الطفرات وانتهينا بمجموع (٢١) يحتوى على (م٢) من الطفرات فتعدل المعادلة مع ضرب الناتج فى معامل للتصحيح هو ل ط ٢ (= اللوغاريتم الطبيعى للرقم ٢) .

$$\text{معدل التطفر (م)} = ٢ \text{ لط } ٢ \left( \frac{٢م}{٢١} - \frac{١م}{١١} \right) / \text{ن}$$

حيث لط = اللوغاريتم الطبيعي

$$١م ، ٢م = \text{عدد الطفرات عند الوقت } ١ ، ٢$$

$$١١ ، ٢١ = \text{العدد الكلى للخلايا عند الوقت } ١ ، ٢$$

$$\text{ن} = \text{عدد الأجيال}$$

ولتقدير معدل التطفر نعود مرة أخرى للإشارة إلى اختبار التذبذبات في عدد الخلايا الطفرية في حالة المزارع المستقلة عقب تعريضها للمضاد الحيوى ستربتومايسين ، فاذا تجاهلنا عدد المستعمرات في كل طبق يمكننا إذن أن نتلافى الأخطاء التجريبية التى يمكن حدوثها نتيجة للاختلاف في معدلات النمو بين الطفرات المختلفة والتي تؤثر على تأقلم كل منها في المجموع الأصيل . والذي يهمننا في هذه الحالة معرفة ما إذا كان قد تكون بالمزرعة طفرات أم لا بصرف النظر عن عددها أو ناتج نموها في كل طبق . وبناء على ذلك فاذا علمنا العدد المبدئى initial number للخلايا بكل مزرعة عند تعريضها لتأثير المضاد الحيوى وكذلك نسبة المزارع التى لم يحدث بها طفرات إلى العدد الكلى للمزارع ، فان مثل هذه المعلومات البسيطة تكون كافية لحساب معدل التطفر « ا » لكل خلية بكتيرية ولكل دورة انقسامية تبعاً لمعادلة لوريا ودلبروك Luria & Delbruck (١٩٤٣) .

$$١ = (٢ \text{ لط ب}) / \text{ن}$$

حيث ب = نسبة المزارع التى لم يتكون بها طفرات

ن = متوسط عدد الخلايا في كل مزرعة بعد فترة النمو وقبل التعريض لتأثير

المضاد الحيوى .

لط = اللوغاريتم الطبيعي Natural log. (يستعمل القاعدة ٢,٧١٨ بدلا من القاعدة ١٠) .

وقد أوجد نيكومب Newcombe (١٩٤٨) معادلة أخرى لحساب معدل التطفر لأي صفة من الصفات ولتقدير معدل التطفر بهذه الطريقة تشترط معرفة عدد الطفرات بكل مزرعة في مجموعة من المزارع المستقلة وتعمل هذه المعادلة فقط عندما تتساوى معدلات نمو كل من السلالات الطفرية والسلالة الأم (الأصلية) في البيئة الغذائية المستعملة .

وهذه المعادلة كما يلي :

$$R = \left( \frac{a}{Lp} \right) \left( \frac{K}{Lp} \right)$$

حيث أن : R = متوسط عدد الطفرات بكل مزرعة .

a = معدل التطفر لكل خلية بكتيرية لكل دورة انقسامية .

N = متوسط عدد الخلايا بكل مزرعة بعد انتهاء النمو وقبل

التعرض لعامل الانتخاب (المضاد الحيوى) .

K = عدد المزارع المستعملة .

Lp = اللوغاريتم الطبيعي .

إن تعريف معدل التطفر الذى يحسب لكل خلية بكتيرية لكل دورة انقسامية يشترط حدوث الانقسام الحلوى لحدوث الطفرات . إلا أن الدراسات الحديثة التى قام بها نوفيك ، وسيزلارد Novic and Szilard (١٩٥٠) بالاستعانة بجهاز خاص للنمو يطلق عليه اسم chemostat مكنت من إثبات أن معدل النمو في حالة واحدة فقط كان معتمداً على الوحدة الزمنية unit time أكثر من اعتماده على الوقت الجليلى . وهذا يعنى أن معدل التطفر يكون ثابتاً في خلال وقت معين بصرف النظر عن عدد الدورات الانقسامية التى تكون قد حدثت أثناءها .

وجهاز chemostat هذا مصمم على أساس الاحتفاظ بالخلايا في

طورها اللوغاريتمى باستمرار أو بمعنى آخر فإنه يعمل على تأجيل حلول الطور الثابت وذلك بتوفير البيئة الطازجة باستمرار للمزرعة ومعادلة الاختلافات في قيمة الـ pH علاوة على توفير كل الظروف البيئية التي من شأنها استمرار النمو النشط باضطراد كونها ناتج انقسام خلية بكتيرية حدث لجهازها الوراثي تغيير معين . وأن عدد الخلايا المتغيرة يتضاعف نتيجة للانقسام .

هذا وقد لوحظ أيضاً أنه يمكن للطفرات أن تحدث في الخلايا المتوقفة عن الانقسام resting cells كما يحدث للخلايا المستريحة من البكتيريا *Sarcina marcescens* والتي تنتج طفرات مختلفة من ناحية إنتاجها للمواد الملونة، وإلى الآن لا يمكننا تعميم هذه النتائج الفردية على الطفرات عموماً .

### أنواع الطفرات البكتيرية

لقد أمكن التعرف على عدة أنواع من الطفرات البكتيرية درس بعضها بالتفصيل في حين أن البعض الآخر لازال غير مدروس بالدرجة الكافية .

#### ١ — الطفرات البيوكيميائية : Biochemical mutants

وتشمل هذه المجموعة من الطفرات تلك التي تكون قد فقدت القدرة على تخليق مادة أو أكثر من المواد الأيضية الهامة biochemically deficient mutants ولتنمية هذه الطفرات بالمعمل يشترط إضافة المواد الأيضية التي لا تقدر الخلايا على تخليقها إلى بيئة الزرع .

وتتبع الطفرات البيوكيميائية أيضاً تلك التي تظهر مختلفة عن السلالات الأصلية في لون المستعمرات أو في القدرة على إفراز مواد تلوينية pigment-ation mutants والتي يسهل تمييزها عن السلالات الأصلية عن طريق ألوانها المختلفة والطفرات التخمرية والتي تختلف في صفاتها التخمرية والأخرى التي تختلف في صفاتها السيرولوجية عن السلالات الأصلية يمكن إدراجها ضمن الطفرات البيوكيميائية أيضاً .

٢ - طفرات مقاومة للعوامل المميتة أو السامة أو الموقفة للنمو :

Mutants resistant to inhibitory agents.

وتشمل الطفرات المقاومة للمضادات الحيوية والمواد الكيماوية السامة ،  
والطفرات المقاومة لتأثير الاشعاعات وتلك المقاومة لتأثير الفيروس البكتيرى .

٣ - طفرات تختلف عن السلالات الأصلية فى الصفات المظهرية لمستعمراتها .

١ - الطفرات البيوكيميائية : Biochemical mutants

( أ ) الطفرات ناقصة القدرة البيوكيميائية التخليقية :

Biochemically deficient mutants

معظم الدراسات التى أجريت على الطفرات البكتيرية عموماً تمت باستعمال  
البكتيريا *Escherichia coli* ، وذلك لسرعة نموها وقدرتها على النمو فى  
البيئات البسيطة التركيب والتى تعرف بأسم بيئة الحد الأدنى minimal medium  
والتي تتركب من : سلفات أمينيوم وسكر الجلوكوز وبعض الأملاح المعدنية  
الأخرى ، وهذا يسهل كثيراً من ملاحظة أى تغير يطرأ على إحتياجاتها الغذائية .  
فهذه البكتيريا تستعمل فى دراسة وراثه البكتيريا تماماً كذبابة الفاكهة  
( الدروسوفيل ) أو فطر *Neurospora* ، فى دراسة الوراثة بالكائنات الأكثر  
رقياً . والاحتياجات الغذائية البسيطة للسلالات البرية wild strains من  
من هذه البكتيريا تعتبر انعكاساً لقدرتها العالية على تجهيز كل مكوناتها  
البروتوبلازمية من أحماض أمينية ، وأحماض نووية وفيتامينات عن طريق  
عديد من النظم الأنزيمية المختلفة ، فإذا تغير أحد الجينات التى تتحكم فى أحد  
هذه النظم الأنزيمية بدرجة لا تسمح لها بالقيام بالتفاعلات التخليقية اللازمة  
فان الطفرة المتكونة حينئذ تتطلب اضافة ناتج تفاعل هذا النظام الأنزيمى إلى  
البيئة لكي يستمر النمو . والطفرات ذات القدرة التخليقية الناقصة يطلق عليها  
اسم auxotrophes تتميز ألقا عن السلالة الأصلية أو البرية التى نشأت منها  
والقادرة على النمو فى بيئة الحد الأدنى والتى يطلق عليها اسم prototrophes .



وإذا حدث التعطل الأنزيمي الوراثي genetic block عند موضع جين واحد فقط فإن الطفرة الناتجة يمكنها أن تقوم بالتفاعلات الأخرى المحكومة بالجينات الأخرى التي لم تعطل حيث يمكن للخلية أن تستعمل المواد الناتجة أو المواد الوسطية لسلسلة التفاعلات التي تسبق الجين المتعطل وراثياً والذي تتكدس عنده المواد الوسطية .

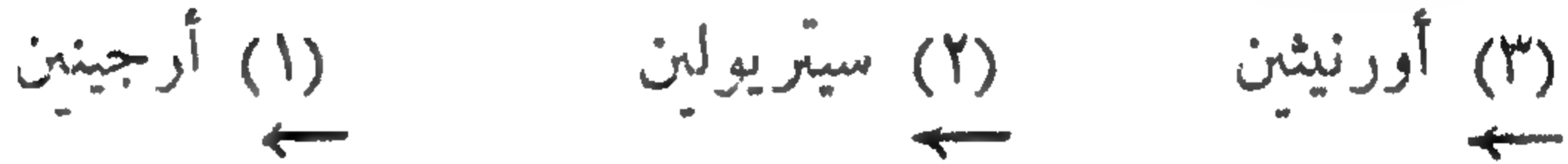
وباستعمال الطفرات ناقصة القدرة التخليقية والمعطل نشاطها الكيماوى الحيوى عند خطوات مختلفة من سلسلة التفاعلات الأيضية أمكن التعرف على الخطوات الحقيقية فى تخليق كثير من المواد الأيضية الحيوية بداخل الخلايا . ومن الأمثلة فى هذا الصدد دراسة طفرات البكتيريا *Escherichia coli* والتي تحتاج إلى اضافة الحمض الأميني أرجينين arginine إلى بيئة الحد الأدنى . وبعض هذه الطفرات تنمو فقط إذا أضيف الأرجينين إلى بيئة الحد الأدنى وأخرى تنمو إذا استبدل الأرجينين بالسيثريولين citruline أو الأورنيثين ornithine . وباجراء هذه التبديلات يمكن الحصول على نتائج مثل تلك المبينة (بالجدول رقم ١٤) .

جدول رقم ١٤ : نمو طفرات البكتيريا *E.coli* المحتاجة إلى حمض الأرجينين الأميني

المواد المضافة إلى بيئة الحد الأدنى			نمرة الطفرة
أورنيثين	سيثريولين	أرجينين	
—	—	+	١
—	+	+	٢
+	+	+	٣

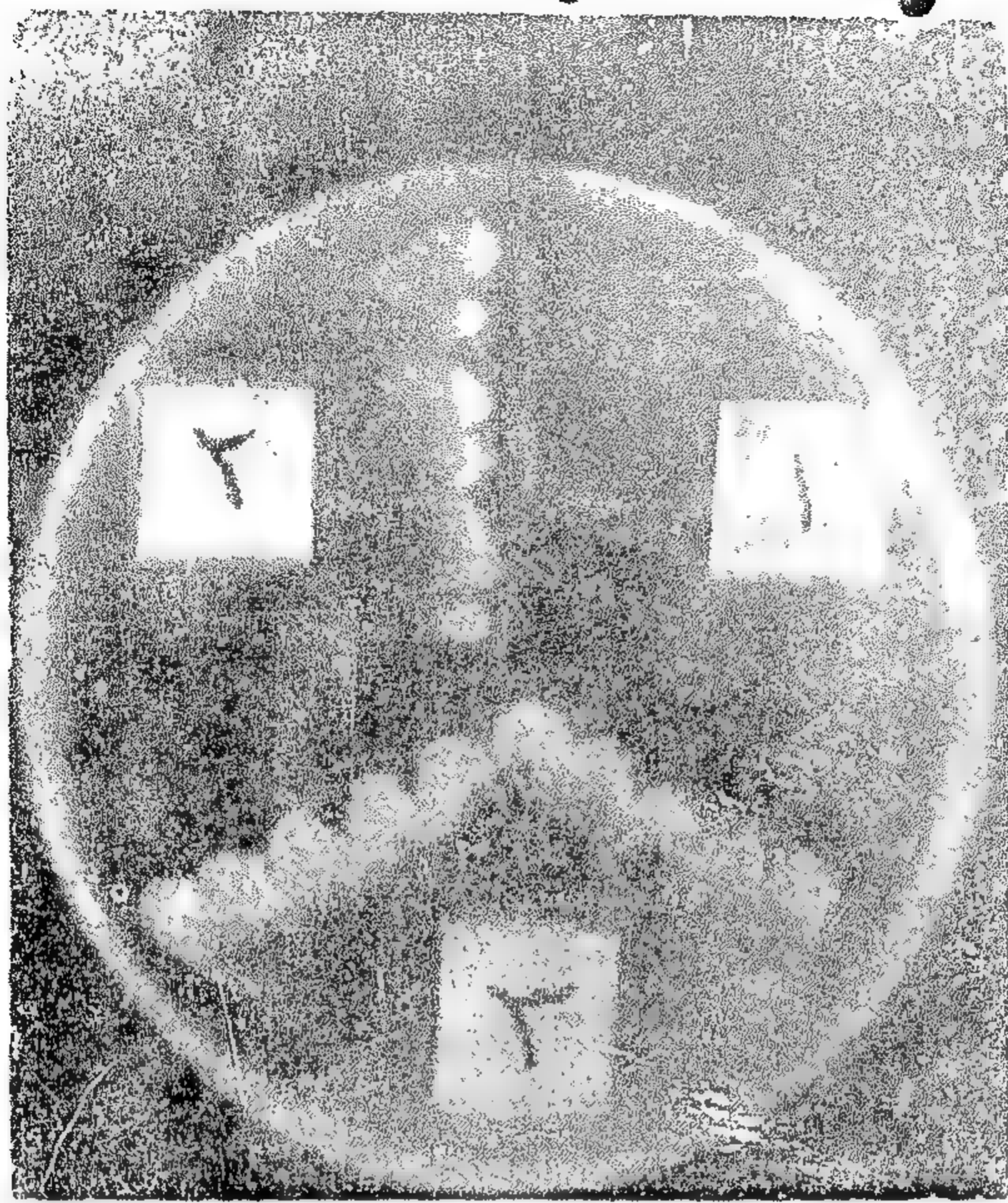
( + يوجد نمو ، — لا يوجد نمو )

وعلى ضوء النتائج المبينة (بالجدول رقم ١٣) يمكن اقتراح طريقة تخليق حمض الأرجينين الأميني حيويًا بداخل هذه الخلايا . فمثلا الطفرة «رقم ١» يبدو أن جهازها التخليقي معطل في الخطوة التي تسبق تكوين الأرجينين مباشرة . والطفرة «رقم ٢» تكون معطلة مباشرة قبل تكوين السيترولين . والطفرة «رقم ٣» تكون معطلة قبل تكوين الأرونيثين مباشرة كما يلي :



وطريقة استبدال المواد المضافة إلى بيئة الحد الأدنى تستعمل بكثرة لمعرفة خطوات تخليق المواد الأيضية المختلفة ، لا تستعمل فيها الطفرات البكتيرية فقط بل تستعمل فيها أيضاً السلالات أو الأنواع أو الأجناس البكتيرية المختلفة وبخاصة بكتيريا حمض اللاكتيك .

ويمكن أيضاً التأكد من صحة الخطوات التخليقية المقترحة باستعمال الطفرات الناقصة القدرة البيوكيميائية أو المعطلة القدرة التخليقية عند خطوات مختلفة . فعند الزرع المختلط لهذه الطفرات . نتوقع أن طفرة من هذه الطفرات يمكنها أن تكسب مواد تفاعل الأنزيم المعطل بها وأن هذه المواد يمكنها أن تستعمل بواسطة طفرة أخرى يكون أنزيمها معطلا عند خطوة أخرى سابقة لها وهكذا وتعرف هذه الظاهرة باسم Syntrophism وهذه الظاهرة يمكن ايضاحها بالتجربة البسيطة التالية . إذا لقحت كل من الطفرات المذكورة (بالجدول رقم ١٤) على بيئة الحد الأدنى المحتوية على كمية بسيطة جداً من الأرجينين تسمح بظهور نمو ضعيف من الطفرات الثلاث وذلك بعمل تخطيط مزدوج لكل طفرة في ثلث الطبقات المستعمل بحيث تتجاور الطفرات الثلاث كما هو مبين (بشكل ٨٧) . يلاحظ غزارة نمو أحد الطفرات عندما تنمو مجاورة للطفرة الأخرى ، ويعزى غزارة النمو هذه إلى أحد الطفرات تعمل على تغذية الطفرة الأخرى بالمواد التي تكسبها . فمن (الشكل ٨٧) نلاحظ أن الطفرة «رقم ٣» تستغل المواد المكسدة الناتجة عن نمو كل من الطفرات «١ ، ٢» والطفرة



شكل ٨٧ : ظاهرة Syntrophism

«رقم ٢» تستفيد فقط من المواد التي تكديسها الطفرة «رقم ١». من ذلك نرى أن الطفرة «رقم ١» هي أكثر الطفرات قدرة على تكديس المواد التي يمكن للطفرات الأخرى استعمالها. ويعقبها في ذلك الطفرة «رقم ٢»، في حين أن الطفرة «رقم ٣» تعتبر أضعفها في هذا الصدد. من ذلك يمكن التحقق من أن السيتريلولين، والأورنيثين تعتبر من المواد الوسيطة في التخليق الحيوي للارجينين.

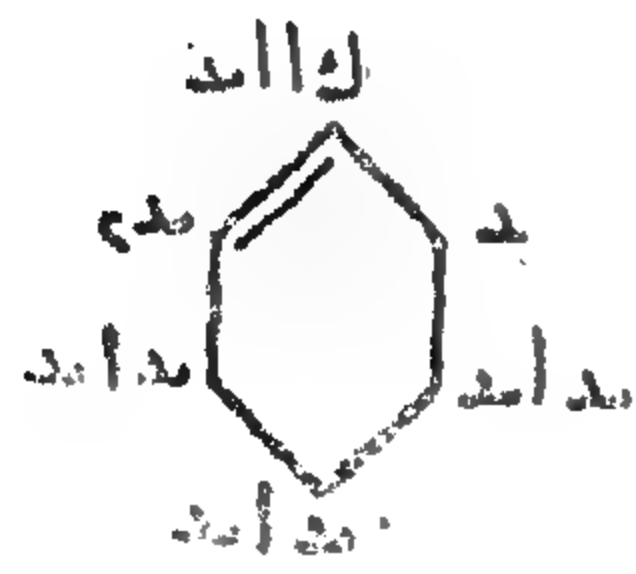
وهناك طفرات بكتيرية متعددة المطالب polyauxotrophic بمعنى أنها تتطلب لنموها إضافة أكثر من مادة واحدة، مثل الطفرات التي تحتاج إلى إضافة مادتين وتعرف بالطفرة المزدوجة المطالب double، أو الثلاثية triple أو الرباعية quadruple. ومن أمثلة ذلك تلك التي تفتقر إلى المركبات الحلقية aromatic ring compounds كما هو مبين (بالجدول رقم ١٥) والذي يبين أربع طفرات متعددة المطالب الغذائية.

جدول رقم ١٥ : الاحتياجات الغذائية لطفرات *E. coli*  
المتعددة المطالب

رقم لطفرة	نوع الطفرة	نمو سريع باضافة					حمض الشيكيميك يحل محل
		١ تايروسين	٢ فينيل الانين	٣ تربتوفان	٤ بارا-أمينو بنزويك	٥ بارا شيكروكسي بنزويك	
١	مزدوجة	+	+	-	-	-	-
٢	ثلاثية	+	+	+	-	-	-
٣	رباعية	+	+	+	+	-	٤.٣
٤	خماسية	+	+	+	+	+	٥.٤.٣

وقد وجد أن حمض الشيكيميك shikimic acid يمكن الاستعاضة به عن كل من التربتوفان ، وحمض البار-أمينو بنزويك في كل من الطفرات «رقم ٣ ، ٤» . من ذلك أمكن معرفة أهمية حمض الشيكيميك في تحولات البكتيريا الأيضية كما أمكن التعرف على خطوات تخليقه بالخلايا . وبالرغم

من وجود بعض الصعوبات في اتباع مثل هذه الطريقة للتعرف على الخطوات التخليقية لبعض المواد كاحتمال حدوث ارتداد للطفرات reversibility of mutations أو حدوث توقف للنمو نتيجة للتنافس الذي قد يتم بين المواد الوسطية المتشابهة كيميائياً ، أو في عدم الثبات الكيميائي لبعض المركبات الوسطية المتكونة ، ألا أن Shikimic acid أتباعها يعتبر من الطرق التجريبية القياسية في الدراسات الوراثية أو البيوكيميائية في البكتيريا .





وتطلب السلالة الطفرية إضافة أكثر من مركب في البيئة الغذائية يعنى أن حدوث التطفر قد حدث نتيجة لتغير تم في أكثر من زوج واحد من الجينات المختلفة وقد كان لدراسة الاحتياجات الغذائية للطفرات الثنائية الثلاثية والرابعة أهمية كبيرة في دراسة ظاهرة العبور crossing over وإعادة تشكيل الصفات الوراثية recombination في البكتيريا كما سنبين فيما بعد .  
(ب) الطفرات التلوينية : Pigmentation mutants

يمثل هذا النوع مجموعة من الطفرات البيوكيميائية والتي يسهل التعرف عليها من مظهرها الخارجى المميز . فقد لاحظ بنتنج Bunting (١٩٤٦) الاختلافات في انتاج المواد الملونة في البكتيريا *Sarcina marcescens* كما لاحظ لنكولن Lincoln (١٩٤٧) نفس الاختلافات التلوينية في طفرات البكتيريا *Xanthomonas stewartii* وأثبت كل منهما أن هذه الاختلافات تحدث على معدلات طفورية ثابتة .

وفي المعتاد نلاحظ تأثير صفة التلون بالتغيرات في الظروف البيئية ، فمثلا قد تؤدي الاختلافات في قيمة pH البيئة إلى ظهور اختلافات تلوينية واضحة وفي هذه الحالة تحدث هذه الاختلافات في لون كل المستعمرات النامية على البيئة طالما كان العامل المسبب للاختلاف سائداً إلا أنها تعود إلى لونها الأصلي بمجرد زوال العامل المسبب . أما في حالة الاختلافات التلوينية الناتجة عن التطفر فإن الاختلاف في اللون يحدث فقط في مستعمرات فردية في حين أن باقى المستعمرات تظل بلونها الأصلي . ويلاحظ أيضاً أن اختلاف اللون يظل ثابتاً في الأجيال المتعاقبة والناتجة عن نمو المستعمرة المختلفة اللون .

ومعدل حدوث الطفرات التلوينية يختلف بدرجة كبيرة فهو عادة يكون مرتفع جداً . ويتراوح الاختلاف في معدل التطفر اللونى بين  $1 \times 10^{-3}$  إلى  $1 \times 10^{-7}$  .



وتفتقر الطفرات التلوينية عادة إلى الثبات حيث أنها ترتد إلى أصلها بعد عدة أجيال متعاقبة من نموها . ولا زال السبب في ذلك مجهولاً ويحتمل أن يكون السبب في ذلك يرجع إلى تحكم بعض العوامل السيتوبلازمية في صفة التلون شأنها في ذلك شأن الطفرات التخمرية كما سنبين فيما يلي :

### (ح) الطفرات المختلفة في الصفات التخمرية :

يمكن عزل طفرات تختلف من ناحية صفاتها التخمرية عن السلالة الأصلية التي نشأت فيها وقد لوحظت هذه الاختلافات منذ عهد باستير . ويعتبر أول ما شوهد من طفرات البكتيريا *E. coli* تلك السلالات المختلفة في قدراتها التخمرية فقد تمكن ماسيني Massini (١٩٠٧) من عزل طفرات ذات قدرة على تخمير سكر اللاكتوز (لاكتوز +) من سلالة أصلية كانت غير قادرة على تخمير هذا السكر (لاكتوز -) وذلك بأضافة دليل إلى البيئة يتغير لونه عند إنتاج الحمض فتبدو مستعمرات (لاكتوز -) بيضاء اللون في حين تبدو تلك المخمرة (لاكتوز +) حمراء اللون . وقد أشار ماسيني إلى السلالات المخمرة للاكتوز بأنها طفرات تحدث على معدل  $1 \times 10^{-10}$  . وقد درست عدة طفرات تخمرية أخرى لأفراد مجموعة بكتيريا القولون مثل الطفرات التي تختلف في قدرتها على استعمال السترات أو سكر المالتوز ولوحظ أن هذه الطفرات تختلف عن الطفرات الأخرى في أن معدل حدوثها يكون أكبر من غيرها فهي تنشأ على معدل يتراوح بين  $1 \times 10^{-7}$  ،  $1 \times 10^{-10}$  لكل جيل

ومن الملاحظ أن درجة ثبات الطفرات التخمرية أقل كثيراً من غيرها من الطفرات والسبب في قلة ثبات هذه الطفرات لازال غير معروف . والطفرات التلوينية التي سبق الإشارة إليها والتي تختلف عن السلالات الأصلية في درجة تلوونها أو في قدرتها على إفراز الصبغات وكذلك الطفرات التي تختلف في تركيبها الأنتيجيني antigenic structure قد تظهر أيضاً ظاهرة عدم الثبات ومن المحتمل أن صفة عدم الثبات هذه تكون محكومة

بعوامل سيتوبلازمية أى عوامل غير نووية . إلا أن دراسة العبور واعادة تشكيل الصفات الوراثية فى البكتيريا *E. coli* قد أظهرت أن صفة التخمر يتحكم فيها جينات خاصة فى الخلية ، من ذلك يمكن القول أن عدم ثبات الطفرات المختلفة فى الصفات التخمرية وغيرها من الطفرات غير الثابتة لازال محتاجا إلى مزيد من الدراسة .

## ٢ — الطفرات المقاومة لتأثير المواد السامة :

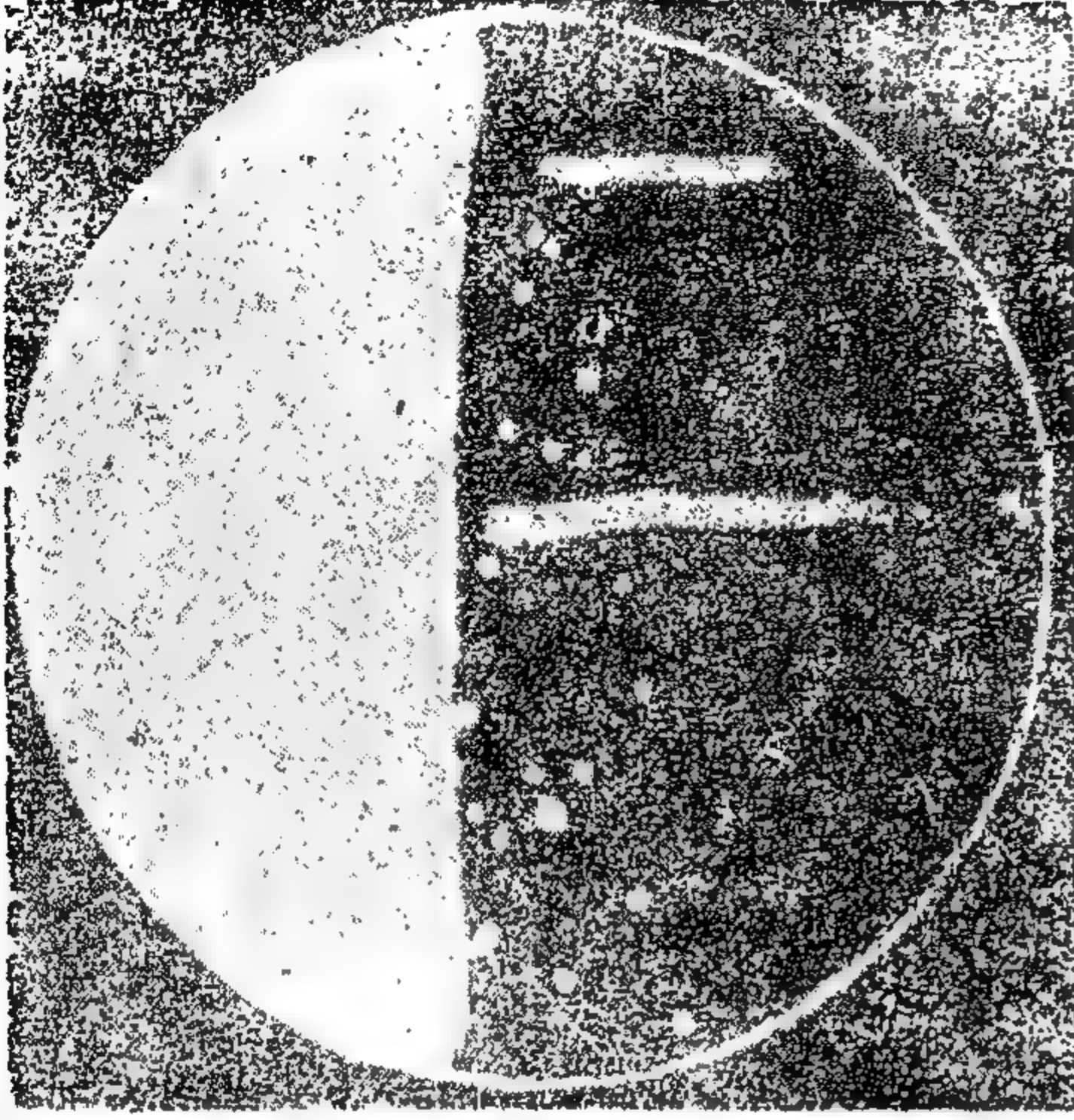
Mutants resistant to inhibitory agents

تشمل هذه المجموعة الطفرات البكتيرية المقاومة للمواد السامة بما فيها المضادات الحيوية وكذلك تلك المقاومة لتأثير الفيرس البكتيرى . فمثلا هناك طفرات يمكنها أن تنمو فى بيئات تحتوى على تركيز من المضاد الحيوى ستربتومايسين يقدر بـ ١٠٠ ميكروجرام لكل ميليلتر واحد من البيئة . فى حين أن السلالة الأصلية التى نشأت منها تكون حساسة لفعل هذا المضاد الحيوى بحيث يكفى تركيز ١٠ ميكروجرام / مل لإيقاف نموها كلية . ومثل هذه الطفرات المقاومة للستربتومايسين تكون محتفظة بحساسيتها للمضادات الحيوية الأخرى إلا أنه قد وجد أن بعض الطفرات المقاومة لبعض المضادات الحيوية قد تظهر مقاومة أكثر أو أقل لبعض المضادات الحيوية الأخرى . ومن أمثلة تلك الطفرات المقاومة للمضاد الحيوى أوريوميسين aureomycin والتى تكون مقاومة فى نفس الوقت للمضاد الحيوى تيراميسين terramycin وتعرف هذه المقاومة بالمقاومة المشتركة cross-resistance . وهذان المضادان الحيويان يتميزان بتشابه فى تركيبهما الكيماوى لذلك فهما متشابهين أيضا فى تأثيرهما الكيماوى الحيوى على الخلايا الحساسة أو بمعنى آخر يكون لهما نفس الفعل السام same mode of action .

وقد سبق أيضا أن ذكرنا أن الفعل المميت للمضادات الحيوية يرجع غالبا إلى التدخل فى التفاعلات الحيوية الهامة بالخلية . وبدراسة التفاعلات الايضية للسلالات المقاومة لفعل بعض المضادات الحيوية لوحظ أن قدرتها على المقاومة

كانت مصحوبة بالتغلب أو بتلافي التفاعلات الضارة أو المعطلة للنمو نتيجة لتأثير المضاد الحيوى . ولإيضاح ذلك نسوق المثال التالى فالمضاد الحيوى بنسلين يؤثر على البكتيريا *Staphylococcus aureus* عن طريق تدخله فى طريقة دخول حمض الجلوتاميك داخل الخلايا . فالخلايا المقاومة للبنسلين من نفس البكتيريا لا بد وأنها تستغنى عن المصدر الخارجى من حمض الجلوتاميك بمعنى أنه يمكنها تخليق هذا الحمض داخلياً ففى إذن لا تعتمد على التفاعلات التى يوقتها البنسلين . كما نجد أن البكتيريا المقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين لا تعتمد على التفاعلات التى يتأكسد فيها حمض البيروفيك بالانزيمات التنفسية حيث أن هذه التفاعلات هى التى تتوقف نتيجة لتأثير هذا المضاد الحيوى على الخلايا الحساسة له .

وتختلف درجة مقاومة الطفرات البكتيرية للمضاد الحيوى ، فبينما نجد بعض الطفرات مقاومة لتركيزات منخفضة من مضاد حيوى معين نجد بعض الطفرات الأخرى مقاومة لتركيزات أعلى من نفس المضاد الحيوى . ومقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية يمكنها أن تزداد بإجراء النقل المستمر للبكتيريا إلى بيئات تحتوى على تركيزات متزايدة من المضاد الحيوى ، وهذا يساعد كثيراً على إنتخاب طفرات قليلة مقاومة لتركيزات مرتفعة وتختلف المضادات الحيوية فى هذا الصدد فقد وجد أن مقاومة الخلايا البكتيرية للبنسلين يمكن زيادتها تدريجياً Stepwise بالطريقة سابقة الذكر نتيجة إلى حدوث سلسلة متتابعة من الطفرات ، بينما فى حالة الستربتومايسين تظهر الطفرات المقاومة للتركيزات المرتفعة منه مباشرة عند أول خطوة من التعرض إلى هذه التركيزات . بمعنى أن الطفرات المقاومة له تظهر مجالا واسعا من درجات المقاومة حيث يمكن عزل طفرات مقاومة لتركيزات منخفضة وأخرى مقاومة لتركيزات متوسطة وأخرى مقاومة لتركيزات مرتفعة دفعة واحدة . ويفضل لعزل هذه الطفرات اتباع طريقة الطبق المتدرج التركيز والذى سبق وصفها



ويبين ( شكل ٨٨ ) بعض مستعمرات طفرية مقاومة للتركيزات المتدرجة من المضاد الحيوى استربتومايسين.

وقد تتكون الطفرات المقاومة للمضادات الحيوية داخل جسم العائل المريض أثناء علاجه بهذه المضادات الحيوية ونتيجة لذلك تتأقلم بالجسم سلالة مقاومة يصعب التخلص منها . لذلك يفضل للعلاج استعمال خليط من المضادات

شكل ٨٨ : نمو طفرات من البكتيريا *E. coli* على طبق متدرج التركيز من مضاد حيوى . لاحظ نمو مستعمرات الطفرات المقاومة بعيدة عن التركيز المانع لنمو معظم الخلايا . ويبين الشكل أيضاً استمرار مقاومة للعلاج استعمال خليط من المضادات مستعمرتان منها للتركيزات الأكثر ارتفاعاً بعد سحب خلاياها تجاه التركيز المرتفع من الطبق .

الحوية المختلفة عن بعضها كيمائياً كما سبق أن بينا . كما يمكن أيضاً أن تتكون طفرات تعتمد على المضاد الحيوى في تغذيتها مثل ما يحدث في حالة طفرات *E. coli* المتطلبة للاستربتومايسين streptomycin-dependent وليس هناك تفسير واضح عن كيفية حدوث مثل هذه الطفرات إلا إذا كانت هذه الخلايا تعتمد على المضاد الحيوى أو نفضله على غيره كـ مصدر للكربون .

وقد يحدث التطفر تجاه مقاومة الخلايا الفعل التحللى lytic action للفيروسات البكتيرية . وقد درست مثل هذه الطفرات تفصيلاً في البكتيريا *E. coli* مع سبع سلالات من الفيروس البكتيرى والتي يرمز لها ( ت ١ T1 ، ت ٢ T2 ، ت ٣ ، ت ٤ ، ت ٥ ، ت ٦ ، ت ٧ ) ، والتي تكون خلايا



السلالة البكتيرية الأصلية حساسة لها. وقد عزلت عدة طفرات بعضها مقاوم لسلالة واحدة والبعض الآخر مقاوم لأكثر من سلالة أو للسلالات جميعاً. والطريقة التي تقاوم بها الخلايا لتأثير الفيروس البكتيري لازالت غير واضحة، ولكن يبدو أنها ترجع إلى عدم قدرة جزيئات الفيروس البكتيري على الادمصاص lack of adsorption على سطح الخلايا المقاومة له. وتعزل الطفرات المقاومة للفيروس البكتيري عادة دفعة واحدة عقب التعريض لتأثيره.

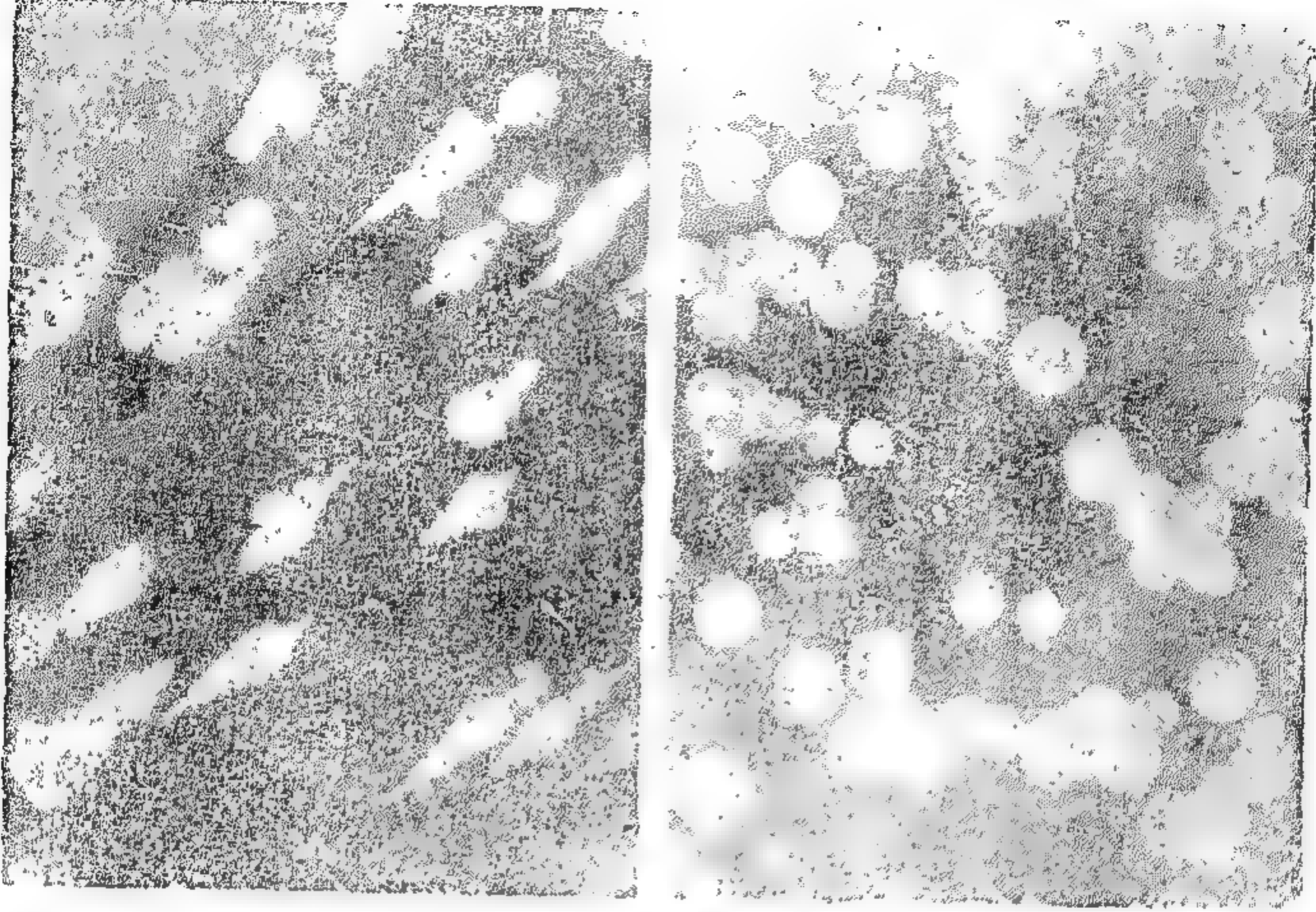
وقد أمكن أيضاً عزل طفرات من البكتيريا *E. coli* strain B مقاومة لتأثير الاشعاعات وبخاصة الأشعة فوق البنفسجية. وتشبه هذه الطفرات تلك المقاومة لتأثير الفيروس البكتيري في كونها تحدث في خطوة تطورية واحدة. وقد وجد أن الطفرات المقاومة لتأثير الأشعة فوق البنفسجية تكون مقاومة أيضاً لتأثير فوق أكسيد الأيدروجين، والحرادل النيتروجيني، والكريستال فيوليت والسفرانين وتيلوريت البوتاسيوم potassium tellurite والبروفلافين proflavin. وقد ثبت حديثاً إمكان الحصول على طفرات من البكتيريا *E. coli* مقاومة لتأثير الاشعاعات عن طريق عزل طفرات مقاومة لتركيزات مرتفعة من صبغة الكريستال فيوليت أو البروفلافين باتباع إحدى الطرق السابق وصفها في دراسة تأثير المواد الكيماوية. ويمكن على ضوء هذه الأبحاث أن نستخلص أن الطفرات المقاومة لتأثير الاشعاعات تتمثل في الطفرات المقاومة للتأثيرات التأكسدية. هذا ولازالت طبيعة هذه التأثيرات التأكسدية غير متعرف عليها.

### ٣ — التطفر الذي يؤثر على الصفات المظهرية للمستعمرات :

#### Mutations affecting colonial morphology

من المعروف أن الشكل المظهرى لمستعمرات البكتيريا لا يختلف فقط باختلاف الأنواع البكتيرية بل أيضاً باختلاف السلالات البكتيرية. وقد تتضافر عوامل عديدة على اظهار مثل هذه الاختلافات المظهرية في شكل المستعمرات. ومن ضمن هذه العوامل الشكل المظهرى للخلايا وتركيبها





شكل ٨٩ : مستعمرات ناعمة ( Smooth ) وأخرى خشنة من البكتيريا *Bacillus anthracis* كما تشاهد بالعين المجردة .

السطحي وطريقة تجمعها . هذا وترتيب الخلايا بالنسبة لبعضها البعض يتوقف جزئياً على طريقة تحرك الخلايا عقب انقسامها على سطح البيئة الصلبة .

ويمكن التعرف على الاختلافات في أشكال المستعمرات بالعين المجردة (شكل ٨٩) إلا أنه يمكن مشاهدة مزيد من الاختلافات بأستعمال مجهر ضوئي تشريحي بسيط dessecting microscope ، والطريقة المثالية لفحص المستعمرات البكتيرية لمشاهدة الاختلافات الطفيفة في صفاتها المظهرية تتلخص في تنميتها على بيئات غذائية شفافة وفحصها بالمجهر البسيط مع اتباع طريقة الاضاءة المائلة obliquely transmitted light وبين (شكل ٩٠) طريقة الحصول على مثل هذا النوع من الاضاءة .

ومما هو جدير بالذكر أن مثل هذه الاختلافات تكون في بعض الأحيان ذات أهمية بالغة للتعرف على مرضية المستعمرات ولا يمكن التحقق منها ميكروسكوبياً إلا بالإستعانة بطريقة الاضاءة المائلة . والسبب الأساسي في دراسة الصفات المظهرية للمستعمرات هو وجود تلازم بين الاختلافات في



شكل ٩٠ : كيفية الحصول على الضوء المائل عن طريق تعديل مرآة مجهر بسيط لغرض فحص المستعمرات البكتيرية .

مظهر المستعمرات وبين كثير من الصفات الأخرى الهامة كالقدرة على إحداث الأمراض والتركيب الانتيجيني الخلوي antigenicity وكذلك درجة مقاومة الخلايا للمواد الكيماوية .

أشكال المستعمرات : لوحظ عدد كبير من الاختلافات في مظهر المستعمرات في معظم الأنواع البكتيرية وقد يشار إليها بما يأتي : مستعمرات ناعمة (S) ، خشنة (R) ، مخاطية (M) mucoid ، ومتوسطة (I) intermediate وبالفحص المجهرى الدقيق باستعمال الاضاءة المائلة أمكن التعرف على عدد من الاختلافات في كل من الاشكال الرئيسية سالفة الذكر . فمثلا يمكن ملاحظة تصنيفات عديدة من المستعمرات الوسطية intermediate تعرف  $I_1$  ،  $I_2$  ،  $I_3$  ، وكذلك في المستعمرات الناعمة حيث تعرف  $S I$  ،  $S II$  ،

S III الخ . هذا وهناك نوع من المستعمرات يشار إليها بحرف ( G ) هي عبارة عن مستعمرات دقيقة جداً محتوية على وحدات قابلة للترشيح ، وكذلك المستعمرات الدقيقة أو المتقزمة (D) dwarf وهي مستعمرات صغيرة نسبياً تحتوي على خلايا مختلفة في الشكل تعرف باسم dephteroids وأيضاً المستعمرات التي يشار إليها بالحرف ( L ) وهي المستعمرات الدقيقة المحتوية على خلايا شبيهة بمجموعة البليرونيمونيا Pleuropneumonia group والتي تعرف L-form ، وفي كثير من الأنواع البكتيرية تتكون طفرات ذات خلايا لم يتغير تركيبها المورفولوجي ولكنها تكون مستعمرات صغيرة جداً microcolonies. ومثل هذه المستعمرات الصغيرة جداً يبدو أن لها نشاطاً أيضاً منخفضاً وقد تتطلب جزئياً إضافة بعض عوامل النمو أو الفيتامينات إلى بيئة الزرع . هذا وطالما كانت الاختلافات في الشكل المظهري للمستعمرات البكتيرية لا تمثل الخطوات المرحلية في حياة البكتيريا ، كما هو في حالة L-form bacteria فإن المظهر المختلف قد يمكن أخذ حينه كدليل على حدوث طفرات تلقائية غير موجهة في بعض الصفات الأخرى التي كانت مميزة للجموع البكتيرية لذلك يجب أن لا يعتمد على الشكل المظهري للمستعمرات في التعرف على السلالات أو الأنواع البكتيرية أو يجب دراسة صفاتها الفسيولوجية أيضاً . وحيث أن الصفات المظهرية تكون عرضة للتغير تبعاً للظروف البيئية فيجب أيضاً أن يكون لدينا القدرة على التمييز بين الاختلافات التي تنشأ نتيجة للتقلبات البيئية وتلك التي تنشأ نتيجة للطفرات .

#### أحداث الطفرات صناعياً : Induction of Mutants

معظم أنواع الطفرات السابقة الذكر تحدث تلقائياً spontaneously بالطبيعة على معدل يتراوح بين  $10^{-1}$  و  $10^{-10}$  ومن المعقول جداً أن نفترض أن منشأ الأجناس البكتيرية وكذلك الأنواع والسلالات يرجع إلى حدوث هذه الطفرات التلقائية . كما أن المزيد من السلالات المختلفة لازالت في طريقها إلى الظهور عن هذا الطريق أيضاً . وليس من الضروري



أن يسفر التطفر عن سلالات بكتيرية تكون أقدر على التأقلم بالبيئة من السلالات الأصلية التي نشأت منها إلا أنه قد يحدث العكس عادة بمعنى أن الطفرة الناتجة تكون أضعف وأقل قدرة على التأقلم من السلالة الأم . وفي الحقيقة فإن التطفر نحو الاعتماد الغذائي على واحد أو أكثر من المركبات الغذائية يعتبر تطفراً مميتاً lethal mutations إلا إذا تواجدت هذه المواد الغذائية بكميات كافية في البيئة بدرجة تسمح بالنمو .

وقد افترض البعض أن الموت الذي يعقب التعرض للأشعة السينية أو فوق البنفسجية يرجع إلى حدوث تطفرات مميتة . إلا أنه لا توجد أدلة تجريبية تؤيد أو تدحض هذا الافتراض في حالة البكتيريات بالرغم من توافر مثل هذه الأدلة في حالة خلايا الخميرة بعد تعرضها للأشعة السينية .

والمقارنة بين التأثير المميت أو التطفري لكلا النوعين من الإشعاعات أعنى الأشعة السينية وفوق البنفسجية ، قد تبين أن هناك تشابهاً واضحاً بينهما .

والطريقتان المقترحتان للفعل المميت للأشعاعات تتلخص فيما يلي :

التأثير المباشر direct hit والتأثير غير المباشر indirect action وهما الطريقتين المؤثرتين أيضاً على الجينات . والتأثير المباشر للأشعة على المناطق الحساسة من الجينات يؤدي إلى حدوث تأين للجزيئات المكونة لها ويحدث نتيجة لذلك غالباً تغير في التركيب الجزيئي DNA في هذه المناطق . وحتى إذا لم يحدث التأثير المباشر لمناطق الجينات فإن نواتج تأين هذه المناطق المتأثرة مثل أيونات الهيدروكسيل أو الهيدروبيروكسيل يمكنها أن تنتشر إلى أن تصل إلى مواقع الجينات وتؤثر عليها . وتفاعل هذه الأيونات مع الجزيئات المكونة للعجين غالباً ما تؤدي إلى حدوث تغيرات وراثية مميتة .

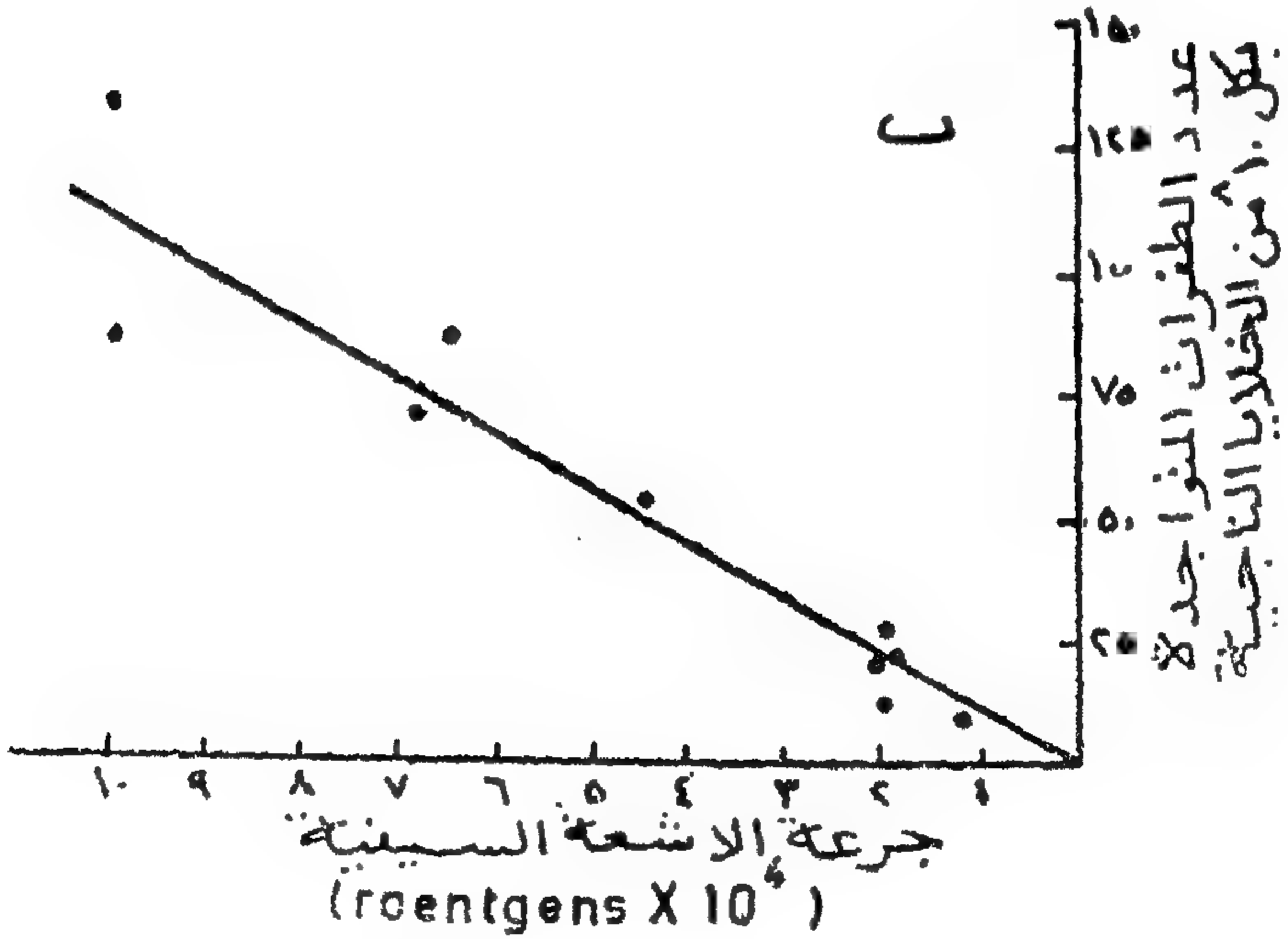
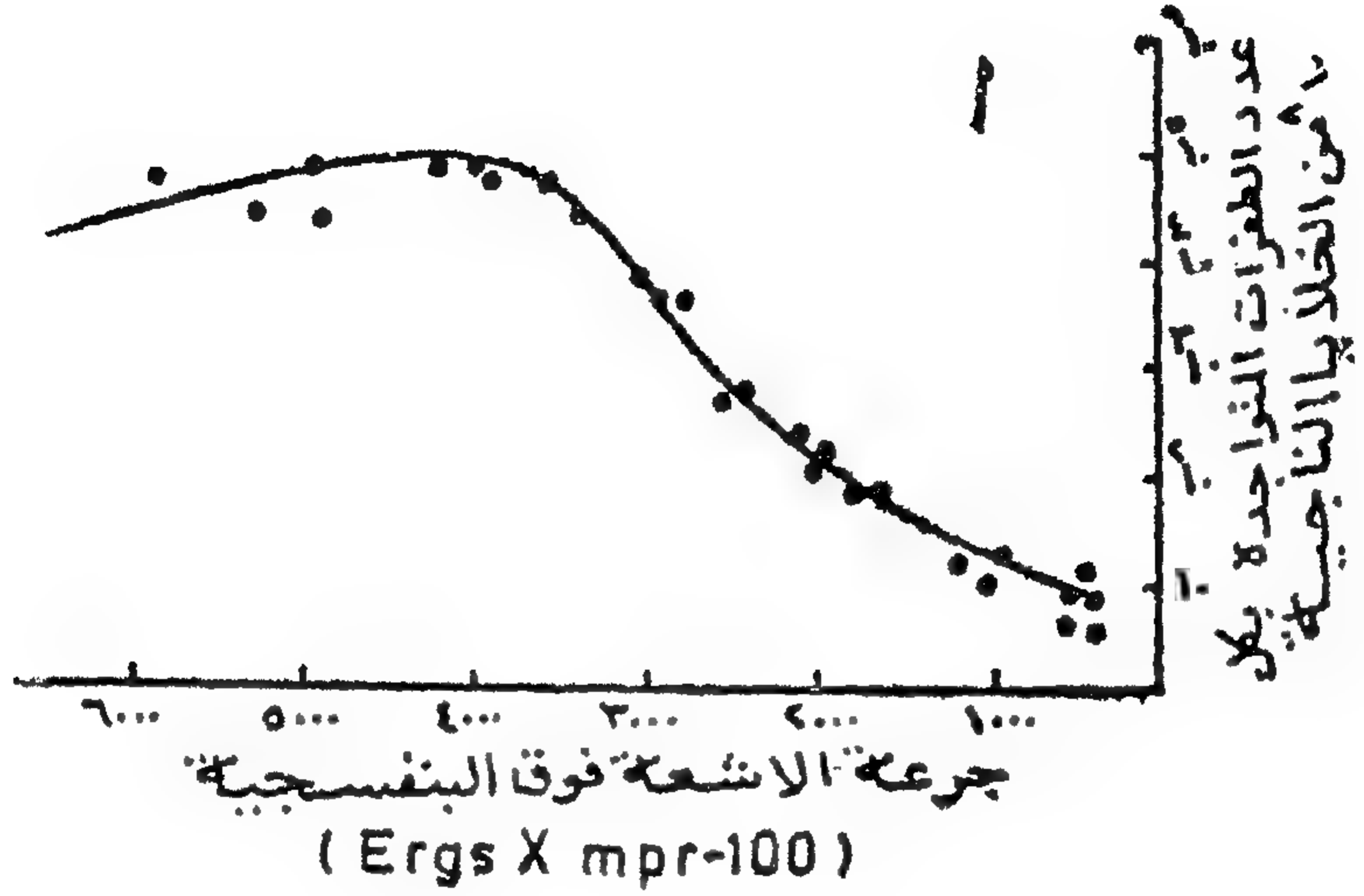
وطريقة عمل المواد التطفرية الكيميائية chemical mutagens مثل الحردل النيتروجيني nitrogen mustard والفورمالدهيد لازالت غامضة ، إلا أنه

يفترض أن هذه المواد تتفاعل مع المجاميع النشطة للبروتينات النووية ، وكما سبق أن بينا أن هناك عدداً كبيراً من المواد ذات القدرة على التفاعل والارتباط بالبروتين النووي ولكن ليس لها تأثير تطفرى . إذن فالطريقة التى تتحد بها المواد التطفرية الكيماوية مع الـ desoxyribonucleoprotein المكونة للجينات وما يعقبها من تفاعلات لا بد وأن تكون طرقاً خاصة تؤدي إلى التطفر *mutagensis*.

قد سبق أن شرحنا ظاهرة التنشيط الضوئى ، فى الباب الثالث من هذا الكتاب ونعود هنا لنذكر أن تعرض المزارع البكتيرية للضوء المرئى عقب تعريضها للأشعة فوق البنفسجية لا يزيد من نسبة الخلايا الناجية من الموت فحسب بل أنه يقلل أيضاً من نسبة الخلايا المتطفرة ضمن الخلايا الناجية وذلك نتيجة لإعادة نشاط أنزيم DNA polymerase كما سبق أن وضحنا ، وظاهرة التنشيط الضوئى هذه قد لوحظت فى عديد من الكائنات الأخرى غير البكتيرية مثل فطر *Neurospora sp.*، وخلايا الخميرة *Saccharomyces sp.*، وفطر *Penicillium sp.*، والميروسات البكتيرية Bacteriophages. وقد وجد أنه عقب الجرعات المرتفعة من الأشعة فوق البنفسجية فإن ظاهرة التنشيط الضوئى يزيد فقط من نسبة الخلايا الناجية أما فى حالة استعمال جرعات منخفضة من هذه الأشعة فإن الضوء المرئى يزيد من تعداد الخلايا الناجية ويقلل من نسبة الخلايا المتطفرة بها .

ويجب أن نقرر هنا أنه من الصعب إلى حد ما إيجاد علاقة بين المواد الوسطية الناتجة بفعل الاشعاعات مثل البيرو أو كسيدات العضوية والتى يكون لها دور فى الفعل التطفرى لهذه الأشعة ، وبين القدرة العالية الـ DNA المكون للأنوية على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية الأمر الذى يؤكد التأثير المباشر direct hit لهذه الأشعة فى أحداث الطفرات . وهناك أدلة تشير إلى أن تأثير الاشعاعات فى أحداث التطفر تأثير معقد قد يتم بأكثر من طريقة واحدة وقد سبق أن بينا تأثير الاشعاع على محتوى النيكليوتيدات من القواعد البيومينية





شكل ٩١ : تأثير الجرعات الإشعاعية على زيادة معدل الطفرات المقاومة للفيروس البكتيري من البكتيريا *E. coli - B.* (أ) في حالة الأشعة فوق البنفسجية (٢٥٣٧ أنجسترام) ، (ب) في حالة الأشعة السينية .

والباريميدنية — وكذلك على حدوث الباريمدين دايمرز وخاصة المركب

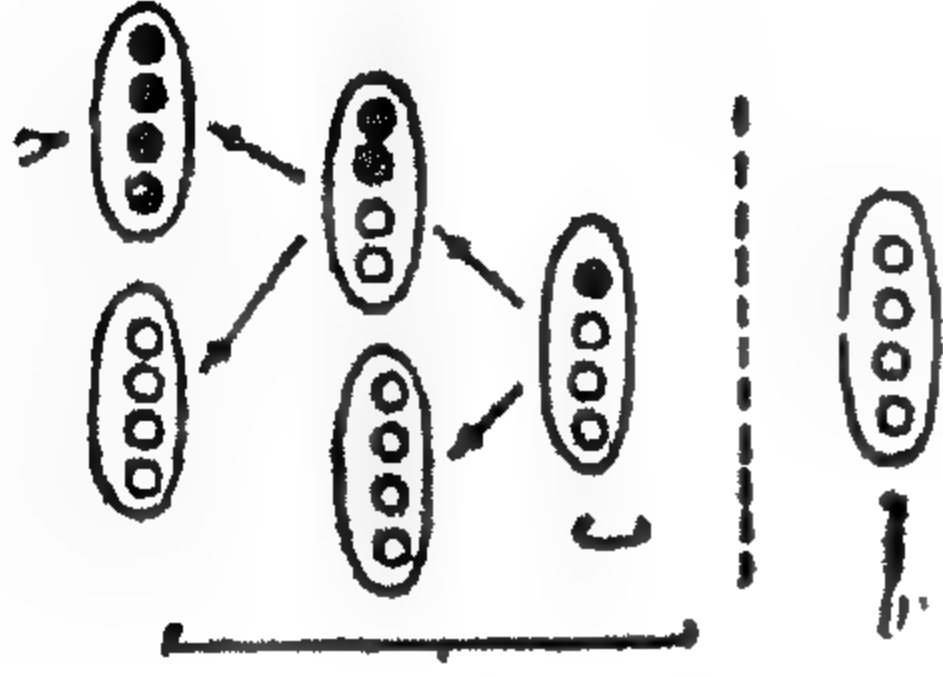
thymine dimer المانع لنشاط أنزيم DNA polymerase

وبدراسة المنحنيات التي تخطط للتعرف على العلاقة بين لوغاريتمات تعداد الخلايا الناجية أو عدد الطفرات المتكونة وبين جرعة الإشعاعات فإننا نلاحظ أن هذه المنحنيات تختلف باختلاف نوع الأشعة المستعمل . ففي حالة الأشعة السينية تمثل العلاقة خطاً مستقيماً (شكل ٩١ - ب) بمعنى أن هناك تلازم مباشر بين حدوث الموت أو التطفر وبين الجرعة المستعملة . وفي حالة الأشعة فوق البنفسجية فإننا نحصل على منحنى غير مستقيم sigmoid curve (شكل ٩١ - أ) بمعنى أن الجرعات العالية فقط تكون ذات تأثير أكبر في إحداث الموت أو التطفر . وهذا يعنى أنه في حالة الأشعة السينية يحدث الفعل المميت أو التطفر نتيجة للتأثير المباشر Direct hit في حين أنه في حالة الأشعة فوق البنفسجية فإنه يلزم عدة تأثيرات multiple hits للحصول على نفس النتيجة .

ويمكن حساب معدل التطفر لأي نوع بكتيري عقب تعرض خلاياه إلى العامل التطفري بإجراء اختبار التذبذبات fluctuation test السابق الذكر .

ومن الملاحظ أن عدداً كبيراً من الطفرات البكتيرية الناتجة عقب تعريض المزارع لعوامل التطفر لا تظهر صفاتها الجديدة إلا بعد مرور عدة أجيال عقب التعرض للعامل التطفري . وكان ديميرك Demerec (١٩٤٦) أول من لاحظ هذه الظاهرة حيث وجد أن طفرات البكتيريا *E. coli* المقاومة لتأثير الفيروس البكتيري تبدأ في الظهور بوضوح بعد مرور عدة أجيال على نموها عقب التعرض للأشعة السينية وقد بين ضرورة مرور ٨ أجيال عقب المعاملة بالأشعاع لكي تظهر الطفرات المقاومة بصورة واضحة ، وقد اقترح اسم phenotypic Lag للإشارة إلى هذه الظاهرة .

وقد لاحظ Newcombe أن مثل هذه الفترة من السكون أو الركود لظهور تأقلم الطفرات تحدث أيضاً للطفرات التلقائية التي تحدث بالطبيعة. وهذا يعنى أن الطفرات لا تظهر نفسها مباشرة بعد حدوثها وأن ذلك يتطلب نموها لعدة أجيال . وقد اقترحت عدة تفسيرات



شكل ٩٢ : رسم تخطيطى يفسر حدوث فترة السكون phenotypic lag التي تسبق تأقلم وراثى بصفات الطفرية متنحية ( أ ) خلية متعددة الأنوية ذات تركيب وراثى موحد same genotype (ب) خلية مختلفة الأنوية heterokaryotic نتيجة لحدوث طفرة متنحية فى أحد أنويتها (ح) خلية متعددة الأنوية ذات تركيب وراثى موحد من النوايات المتغيرة نتجت بعد مرور دورتين انقساميتين.

لهذه الظاهرة ، ( أ ) وجود مواد أيضية زائدة فى الخلايا يلزم استهلاكها بالرغم من عدم قدرة الخلايا على تكوينها ويعرف ذلك باسم الركود الفسيولوجى physiologic lag (ب) تدخل بعض العوامل السيتوبلازمية ، ( ج ) تأخر نمو الخلايا نتيجة لتأثرها بالعوامل التطورية ، ( د ) انعزال الجينات وبخاصة انعزال الجينات المحمولة على النوايا المتأثرة فى الخلايا العديدة الأنوية . وبما أن خلايا البكتيريا تحتوى على أجسام كروماتينية عديدة ، فقد يكون ذلك هو السبب الحقيقى لما لاحظته ديميرك و (شكل ٩٢) يبين ما يمكن أن يتم عند حدوث طفرة فى أحد أنوية الخلية العديدة الأنوية .

واحتمال حدوث طفرات تلقائية أو صناعية فى أكثر من نواة واحدة فى وقت واحد احتمال ضعيف جداً أو شبه معدوم . وحيث أن معدل التطفر يكون عادة قريباً من  $1 \times 10^{-7}$  فإن حدوث طفرتين فى وقت واحد فى خلية واحدة يجب وأن يحدث على معدل قدره  $1 \times 10^{-14}$  وهذا احتمال ضعيف جداً . ومن الملاحظ أنه إذا تغيرت نواة واحدة فى خلية عديدة الأنوية وكان هذا التغير متنحياً فإن وجود الجينات الأخرى الطبيعية بالأنوية الأخرى

لا يسمح بظهور مثل هذا التغيير . ولما كانت معظم التغيرات الطفرية متنحية لذلك فهي لا تظهر مباشرة حتى تسنح الفرصة للنواة المتغيرة أن تتواجد في خلية واحدة خالية من الأنوية الأخرى أو بمعنى آخر أن تتواجد مع أنوية تحتوي على نفس التغير الوراثي . وهذا يتطلب عمليات انقسام خلوي متكررة وبالتالي يمكن عن هذا الطريق تفسير ظاهرة السكون الفينوتيبي phenotypic lag للطفرات عموما .

## المراجع

- Braun, W. 1953. Bacterial genetics. W.B. Saunders and Co., Philadelphia
- Bunting. M.I. 1946. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 11 : 25.
- Catchside, D.G. 1951. The genetics of microorganisms. Sir Issac Pitman and Sons, London.
- Demerec, M. 1946. Proc. Nat. Acad. Sic., 32 : 36.
- Kelner, A. J. 1949. J. Bacteriol. 58 : 511.
- Luria, S.E. 1947. Bact. Rev. 11 : 1.
- Lederberg, J. 1949. Ann. Rev. Microbiol., 3 : 1.
- Lederberg, J. 1951., « Inheritance, Variation and Adaptation » in C.H. Werkman and P.W. Wilson (eds) Bacterial Physiology. Acad. Press. N.Y.
- Lederberg, J. and Lederberg, E.M. 1952. J. Bacteriol. 63 : 399.
- Lincoln, R.E. 1947. J. Bacteriol, 54 : 745.
- Luria, S.E. and Delbruck, M. 1943. Genetics. 28 : 491.
- Massini, R., 1907. Arch. Hyg., 61 : 250.

- Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall, and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt Rinehart and Winston. New York. 769 p.
- Newcombe. H.B. 1948. Genetics. 33 : 447.
- Newcombe, H.B. 1949. Nature, 164 : 150.
- Newcombe, H.B. and Whitehead, H.A., 1951. J. Bacteriol. 61 : 243.
- Novick, A. and Szilard, L. 1950. Proc. Nat. Acad. Sci. 36 : 708.
- Novick, A. and Szilard, L. 1951. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 16 : 337.
- Oginsky, E.L. and W.W. Umbreit, 1954. An introduction to bacterial physiology. W.H. Freeman and Co. San. Francisco.
- Stocker. 1949. Journal of Hygiene 47 : 398 — 413.
- Szbalski, W. and Bryson, V., 1952. Gradient plate technique for isolation of antibiotic-resistant mutants J. Bacteriol. 64 : 489.
- Tatum, E.L. and D.D. Parkins, 1950. Ann. Rev. Microbiol. 4 : 129.



## الفصل الثاني

### التصنيفات غير التطورية

#### Variations other than mutations

#### ١ — التحورات : Modifications

من المعروف أن كل التصنيفات الجماعية التي تحدث للمزارع البكتيرية لا يكون مصدرها التطفر أو الانتخاب فقط بل أن هناك مصادر أخرى، وقد سبق أن بينا إمكان حدوث بعض التحورات modifications المؤقتة تحت تأثير العوامل البيئية والتي لا تورث إلى الأجيال المتعاقبة . ومثل هذه التحورات تحدث عادة لكل خلايا المجموع المتشابه وراثياً (ذات تركيب وراثي genotype متشابه) في وقت واحد . إلا أنه في بعض الأحيان يحدث أن لا تتأثر كل الخلايا المتشابهة وراثياً بعوامل البيئة بدرجة واحدة حيث أن مثل هذه الخلايا لا تكون جميعاً في حالة فسيولوجية موحدة بحيث تتأثر جميعها بدرجة واحدة بالعامل البيئي المؤثر فيؤدي ذلك إلى حدوث تغييرات فردية أحيانا .

وقد سبق أن بينا أيضاً أنه عند تعريض المزرعة البكتيرية إلى عامل بيئي معين فإن كل خلايا المزرعة تتأثر به ويحدث بها تغييرات معينة في صفاتها المعتادة وأن هذا التغير يظل ثابتاً في وجود العامل البيئي المسبب وأن الخلايا تعود إلى صفاتها الطبيعية بمجرد زوال المسبب . وفي بعض الأحيان قد يستمر التغير المظهري hpynotypic alternation لمدة قصيرة عقب نقلها إلى بيئاتها الطبيعية . وتعلل هذه الظاهرة بقدرة الخلايا على تخزين المواد الوسطية الناتجة بالخلايا أثناء نموها تحت تأثير العامل البيئي المسبب للتغير ويستعملها لعدة أجيال عقب انتقالها إلى بيئة جديدة بعيدة عن العامل المؤثر ، ويعرف هذا التأثير بأسم تأثير المواد المخزنة carryover effects .

ويمكن مقارنة هذه التحورات بما يحدث عن طريق التطفر أو الانتخاب فعند أخذ عينات مستمرة من المجموع المتغير ففي حالة التطفر يلاحظ زيادة

تدرجية في تعداد الأفراد المتغيرة الناتجة عن نمو الخلايا الطفرية . وعلى النقيض فإنه في حالة التحورات غير التطورية التي تحدث نتيجة للأقلمة يحدث التغيير لكل خلايا المجموع في وقت واحد ولا يلاحظ زيادة تدرجية وهذا لا يتم كما سبق أن بينا إلا إذا كانت خلايا المجموع البكتيري جميعها ذات تركيب وراثي موحد  $one\ genotype$  . أما إذا كان المجموع مكونا من أفراد مختلفة عن بعضها في التركيب الوراثي ( كما يحدث في حالة التطفر ) فلا يمكن أن يحدث تغيير لكل خلايا المجموع في وقت واحد .

ولإيضاح ما تقدم نسوق المثال التالي :

إذا افترضنا وجود مزرعة بكتيرية مختلطة (شكل ٩٣) تحتوي على مجموعتين بكتيريتين « ا ، ب » خلايا كل منهما ذات تركيب وراثي موحد . وأن خلايا كل من المجموعتين تكون مستعمرات متشابهة إذا ما نمت على بيئة معينة « ج » . ولكن إذا نميا على بيئة أخرى « د » فإن خلايا كل مجموعتين سوف تعطى مستعمرات تختلف عن مستعمرات المجموع الآخر . ومثل هذا التغيير في شكل المستعمرات على البيئة « د » لا يمكن أن يكون نتيجة لحدوث التطفر أو الانتخاب . حيث يمكن أن تكون كلا النوعين مستعمرات متشابهة إذا ما أعيد زرعها على البيئة « ج » .

وهناك تغييرات جماعية أخرى قد تحدث للمجاميع البكتيرية والتي يمكن أن تؤدي إلى استنتاجات خاطئة مثل تلك التي تحدث عندما تؤثر بعض الطفرات النامية في مزارع مختلطة على الشكل المظهري لطفرة أخرى نامية معها في بيئة واحدة بمعنى أن خلايا طفرة معينة تعطى نوعاً مميزاً من المستعمرات يمكنها أن تعطى نوعاً مختلفاً من المستعمرات إذا ما نمت مجاورة لمستعمرات سلالة بكتيرية أو طفرة أخرى . وهذا النوع من التغييرات يشبه إلى حد ما ظاهرة syntrophism التي سبق الإشارة إليها في الفصل السابق من هذا الباب .

وقد وصف Hinshelwood (١٩٤٦) نوعاً آخر من التغييرات الجماعية

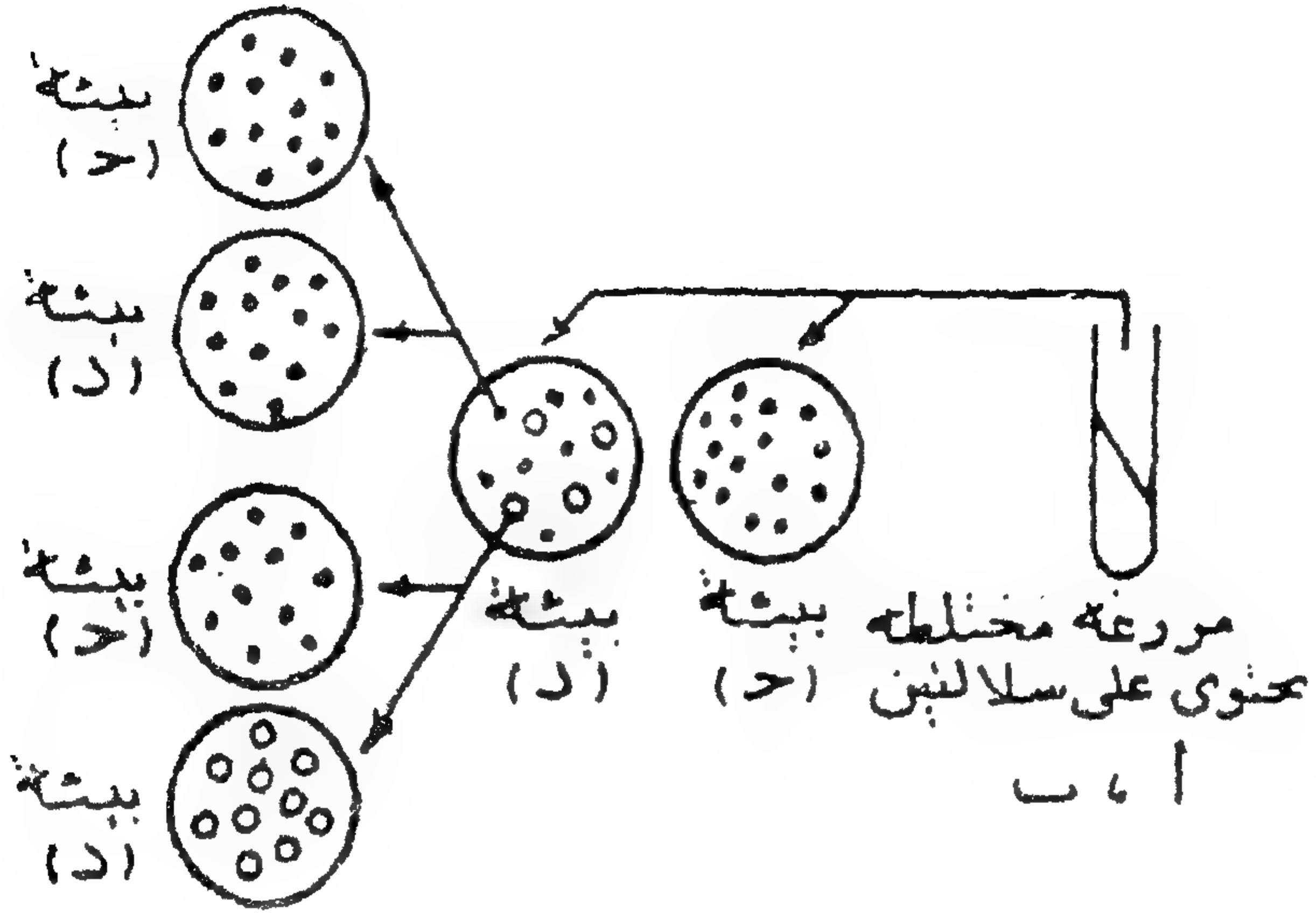
والتي تتمثل في الزيادة المؤقتة في قدرة خلايا مجموع بكتيري معين على مقاومة التأثير المميت لبعض المركبات الكيماوية . وهذه الزيادة في درجة المقاومة تحدث لبعض الخلايا عقب تعريضها لتأثير المادة السامة ويقال أن هذا يحدث عن طريق عملية أقلمة طويلة المدى long period adaptation . وقد اقترح أن هذا النوع من الأقلمة يتضمن عوامل سيتوبلازمية وأنها ليست نتيجة لتغير في التركيب الوراثي أو النووي . وهذه الظاهرة تشبه كثيراً ظاهرة التحكم السيتوبلازمي في بعض النظم الأنزيمية مثل أنزيمات السيتوكروم أو أكسيداز Cytochrome oxidases في خلايا الخميرة والذي أشار إليه ايفراس Ephrassi (١٩٥١) ويبين أن كل نشاط هذه الأنزيمات يكون محصوراً في التركيب السيتوبلازمي المعروف باسم الميتوكوندريا . وقد بين Ephrassi وزملاؤه أن هناك ارتباطاً في مظهر مستعمرات الخميرة ونشاط أنزيمات السيتوكروم أو أكسيداز بخلاياها . فالمستعمرات الصغيرة تحتوى على خلايا خالية من نشاط هذه الأنزيمات .

ومما يؤيد أن نشاط هذه الأنزيمات يكون مرتبطاً بعوامل سيتوبلازمية (ميتوكوندريا) وأن هذه الأجسام يمكنها أن تنقسم بداخل الخلايا فإن إيقاف هذا الانقسام باستعمال مركبات الأكريفلافين acriflavin يؤدي إلى تكوين مستعمرات صغيرة الحجم خالية من نشاط أنزيمات سيتوكروم أو أكسيداز .

ويتميز هذا النوع من التغيرات (والتي يطلق عليها أحيانا الوراثة السيتوبلازمية) عن تلك التي تحدث نتيجة للأقلمة في أن الأخيرة لا تتمكث طويلاً إذا ما أبعدت الخلايا عن التأثير المسبب لها .

## ٢ — التطبع : Adaptation

اعتقد كثير من العلماء القدامى مثل Manwaring (١٩٣٤) و Sepilli (١٩٣٩) في أن المجاميع البكتيرية ذات مرونة كافية flexible لتسمح بتطبعها المباشر لعدد من الظروف البيئية . وهؤلاء العلماء قد امتنعوا تماماً عن الاهتمام



شكل ٩٣ : رسم تخطيطي يبين التغيرات الجماعية والتي تحدث نتيجة للتشابه في مظهر المستعمرات لسلالتين مختلفتين في التركيب الوراثي أ ، ب ، عندما تنمو على بيئة (ب) بالمقارنة بعدم تشابه مستعمراتها عندما ينميان على بيئة أخرى (د) .

بالتطفر في البكتيريات كوسيلة لاجداث التصنيفات المختلفة . وفي غياب البراهين التي تثبت أن العكس هو الصحيح ، في ذلك الوقت ، فقد اقتنع كثير غيرهم في نظرية التطبع وأهميتها في إحداث التصنيفات البكتيرية . وأصبح من الشائع أن يظهر بالأبحاث البكتيريولوجية كثير من المصطلحات مثل تطبع adaptation أو اكتساب acquisition للأشارة إلى التصنيفات البكتيرية . وحتى الآن فلازلنا نرى هذه المصطلحات في البحوث والمؤلفسات البكتيريولوجية والتي لازالت تشير إلى ظاهرة التطبع كأحد الوسائل في حدوث التصنيفات . لذلك فمن الواجب مناقشة ظاهرة التطبع للتعرف عليها ومدى علاقتها بالتركيب الوراثي للبكتيريات .

من المعروف أنه يمكن تقسيم البكتيريا إلى أجناس ، وأنواع وسلالات على أساس مقدرتها على انتاج وتكوين الانزيمات . من المعروف أيضاً أن الخلية البكتيرية تنتج نوعاً معيناً من الانزيمات لأمتلاكها عوامل وراثية خاصة بآنتاج هذه الانزيمات بكميات كافية تحت مختلف الظروف البيئية . ويطلق على هذا النوع من الانزيمات اسم الانزيمات الأصلية *constitutive enzymes*

وهناك نوع آخر من الانزيمات يمكن للخلايا أن تنتجه بكميات كافية عندما تتواجد تحت ظروف معينة ، يعرف فقط بالانزيمات التطوعية *adaptative enzymes* ، مثل الانزيمات التي لا تتكون بالخللايا إلا إذا تواجدت مواد تفاعلها في البيئة . فوجود مواد التفاعل هذه في البيئة تعتبر بمثابة الزناد *trigger effect* لبدء تكوين وتجهيز هذا النوع من الانزيمات داخل الخلايا ، ومن الملاحظ في مثل هذه الحالات أن البيئة وتركيبها هي التي تحدد أي التفاعلات الانزيمية يمكن حدوثه بالخلية . ويجدر ذكر أن هذا يحدث فقط في حدود القدرة الوراثية للمجموع .

ويمكننا هنا أن نتساءل لماذا يحتاج الكائن البكتيري إلى منه خارجي *external stimulus* لكي ينتج انزيمات معينة فقط ؟ وللإجابة على هذا التساؤل نسوق الاحتمالين التاليين :

١ — أن تكوين هذا الانزيم التأقلمي بالخللايا يتطلب وجود مادة تفاعله والتي تعمل كمنبه لبدء تكوين الانزيم . ومن الناحية الأخرى يمكن القول أن الانزيمات الأصلية *constitutive* تتكون بالخللايا بنفس الدرجة في وجود أو غياب مواد تفاعلها . أو أن التفاعلات الأيضية بداخل الخلايا توفر مواد تفاعل الانزيمات الأصلية طبيعياً بكميات كافية وباستمرار داخل الخلايا في حين أن التفاعلات الأيضية الطبيعية لا توفر مواد تفاعل الانزيمات التأقلمية بالكمية الكافية لتنشيط الخلية لآنتاج هذه الانزيمات وأن إضافة مواد التفاعل إلى البيئة يزيد من تركيزها داخل الخلية بالدرجة اللازمة .



٢ - والاحتمال الثاني هو أن الخلايا تفضل تكوين الانزيمات الهامة لنموها وتكاثرها أولاً ، أما الانزيمات الأخرى الأقل أهمية والتي تأتي في المرتبة الثانية من ناحية بقاء الخلية تتكون فيما بعد نتيجة لتأثير البيئة ، إذا ما تبسّى بالخلايا فائض من المكونات البروتينية المبدئية protein precursors للانزيمات . من هذا نرى أن الخلية ترغب أولاً في البقاء وحماية قدرتها على التكاثر .

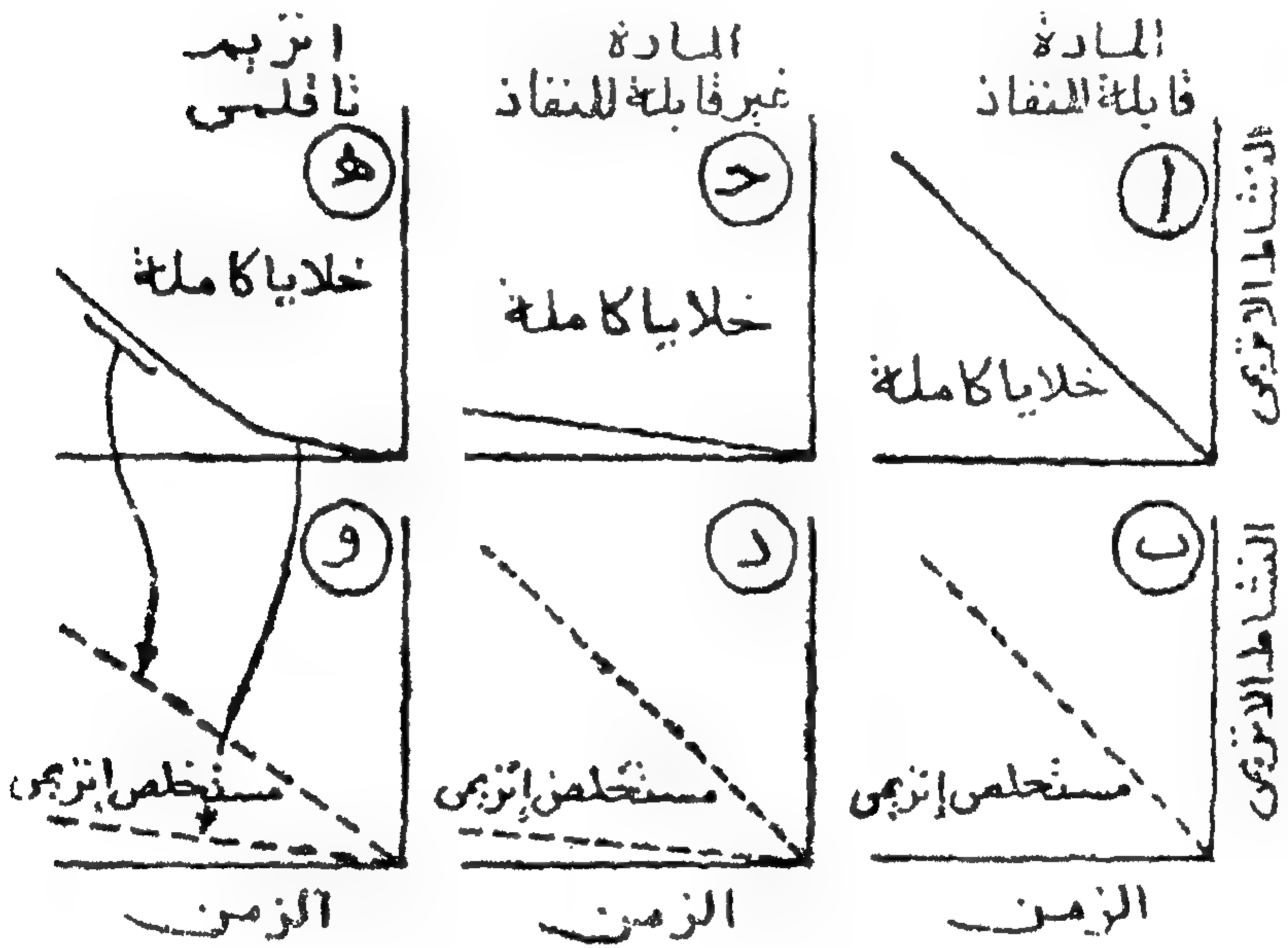
ومن المعروف أنه كلما زادت قدرة الكائن البكتيري على التطبع الانزيمي بمعنى ازدياد قدرته على استعمال بعض المواد غير الأساسية لنموه وتكاثره كلما اتسع المجال البيئي لهذا الكائن وأمكنه المعيشة تحت ظروف بيئية مختلفة وازدادت قدرته على مقاومة غير الملائم منها .

وتتميز ظاهرة التطبع الانزيمي بأن كل خلايا المجموع البكتيري تظهر الاختلافات في قدرتها على انتاج انزيم معين دفعة واحدة ، وقد لوحظ أن الخلايا يمكنها التطبع وهي متوقفة عن الانقسام ، فقد أمكن للخلايا المغسولة والمستريحة أن تكون انزيمات تأقلمية . وعموماً فإن التغيرات ذات المنشأ التأقلمي هي تغيرات مظهرية phenotypic alternation وليست نتيجة لتغير التركيب الوراثي للخلايا .

طرق التأقلم الانزيمي : يمكن عادة دراسة النشاط الانزيمي للكائنات الحية الدقيقة بأضافة مواد تفاعل هذه الانزيمات إلى الخلايا المتوقفة عن الانقسام resting cells مع وضع الخليوط تحت ظروف بيئية مناسبة ، وهذا النشاط يمكن تقديره عن طريق سرعة اختفاء مادة التفاعل أو عن طريق تقدير كمية المواد الناتجة عن التفاعل . وطبيعة النتائج التي يمكن الحصول عليها في مثل هذه الدراسات تتوقف على ما يأتي :

١ - إذا كان الغشاء الخلوي منفذاً لمادة التفاعل وكان الانزيم المختص متكوناً بالخلية بكمية كافية فسوف نحصل على منحني للنشاط الانزيمي (شكل

٩٣ - (١) ، وفي هذه الحالة يبدأ الأنزيم في مهاجمة مادة التفاعل بعد مدة وجيزة من اضافتها وتستمر سرعة التفاعل ثابتة حتى تنتهي مادة التفاعل وتختفي من البيئة . وإذا استخلصت المحتويات الأنزيمية للخلايا وأضيفت هذه المستخلصات إلى مادة التفاعل فاننا نحصل على منحنى للنشاط الأنزيمي (شكل ٩٣ - ب) ، يشبه تماماً ذلك المتحصل عليه في حالة الخلايا الكاملة .



شكل ٩٣ : النشاط الأنزيمي للخلايا الكاملة والمستخلصات الأنزيمية .

٢ - أما إذا كان الغشاء السيتوبلازمي غير منفذ لمادة التفاعل فان مادة التفاعل لا تهاجم اطلاقاً بواسطة الأنزيمات الداخلية intracellular enzymes (شكل ٩٣ - ج) ولكن باستعمال المستخلصات الخلوية الداخلية فاننا نحصل على منحنى منتظم (شكل ٩٣ - د) والذي يبين نشاط الأنزيمات التي استخلصت من الخلايا . من ذلك يمكن التقرير بأن عدم قدرة الخلايا على مهاجمة مادة التفاعل يرجع إلى عدم قدرة المادة على النفاذ خلال الغشاء السيتوبلازمي .

وإذا أسفر استعمال المستخلصات الخلوية عن نتائج سلبية فيما يختص بمهاجمة مادة التفاعل المضافة فإنه يمكن تقرير أن هذه الخلايا البكتيرية لا تحتوى على الأنزيم الخاص بمهاجمة مادة التفاعل المضافة . أو إلى فساد الأنزيمات أثناء استخلاصها من الخلايا أو أن الأنزيم الخاص موجود فعلاً ولكنه يفتقر إلى مرافقه الأنزيمى . وكما هو واضح فإن الباحث لا يكون دائماً متأكداً من تفسيراته للنتائج السلبية .

٣ — إذا كان الغشاء السيتوبلازمى منفذاً لمادة التفاعل ولكن الانزيم الذى يحلل هذه المادة انزيمياً تطبيعاً فائنا سوف نحصل على نتائج كما هو مبين (شكل ٩٣ - هـ) . حيث نلاحظ أن هناك فترة سكون أو ركود تقع بين اضافة المادة وبدء ظهور نشاط ملحوظ فى تحللها . وفى بعض الأحيان كما سبق أن بينا من قبل ، يكون الإنزيم التطبعى غائباً كلية أو متواجداً بالخلية بكميات محدودة جداً وتبعاً لذلك ينخفض أو يرتفع المنحنى الموازى للقاعدة الأفقية أثناء فترة الركود .

وباستعمال المستخلصات الخلوية فى هذه الحالة لا يمكن التحصل على تحضيرات إنزيمية نشطة من الخلايا قبل تأقلمها (أثناء فترة الركود) ، ولكن إذا حضرت هذه المستخلصات من الخلايا بعد فترة تأقلمها يلاحظ لها نشاط أنزيمى كبير (شكل ٩٣ - و) .

وفىما يختص بطرق تكوين الأنزيمات التأقلمية نذكر أنها تعتمد على وجود مصدر للطاقة وكذلك مصدر للبروتين الأنزيمى (المكونات البنائية) والى هى عبارة عن أحماض أمينية . وهذه الاحتياجات الضرورية لتكوين الأنزيمات التأقلمية قد درست بالتفصيل بالاستعانة بالبكتيريا *E. coli* . حيث وجد أن خلايا هذه البكتيريا لا يمكنها أن تتأقلم فى غياب المواد التى تمثل المصدرين السابقين . وحقيقة فهناك ثلاثة طرق يمكن لجزئيات الأنزيمات التأقلمية أن تنشأ بواسطتها .

أولاً : أنها تنشأ نتيجة لتحول جزيئات البولي بيتيدات polypeptides الكبيرة الحجم بعملية مشابهة لتحول التربسينوجين trypsinogen إلى تربسين trypsin . ويمكننا أن نفترض حينئذ أن المواد التي تشجع حدوث التأقلم هي عبارة عن مواد منشطة activators تعمل على تنشيط عمليات تحول المركبات المبدئية من البولي بيتيدات إلى بروتين انزيمي بطرق مباشرة أو غير مباشرة .

ثانياً : أن جزيئات الأنزيمات التأقلمية تنشأ فقط نتيجة لارتباط الأحماض الأمينية الحرة لتكون تركيباً أكثر تعقيداً وهو البروتين الانزيمي وأن البولي بيتيدات الأصلية بالخلية لا تتدخل في تكوينها .

ثالثاً : نفترض هذه الطريقة أن الطريقتين السابقتين يتم حدوثهما بمعنى أن الأنزيمات التأقلمية تتكون فقط عندما تضاف الأحماض الأمينية الحرة في وجود إطار من البولي بيتيدات .

ومن المعروف أن الأنزيمات هي عبارة عن بروتينات وكل أنزيم يمثل نوع بروتين معين . وبقياس نشاط انزيم معين أو آخر بالخلية يمكننا أن نأخذ فكرة عن درجة ثبات البروتينات أو تحولاتها بعضها إلى بعض عندما يحدث تأقلم انزيمي .

#### علاقة التطبع الانزيمي بالوراثة :

بين كل من مونود وأنديرو Monod and Andereau (١٩٤٦) أن قدرة الخلايا البكتيرية على التطبع الانزيمي تكون محكومة بالتركيب الوراثي لهذه الخلايا . فقدرة سلالة البكتيريا *E. coli mutabile* على استعمال سكر اللاكتوز تعتمد مبدئياً على حدوث طفرة وأن هذه الطفرة هي التي تجعل الخلايا ذات قدرة على تكوين الأنزيم التأقلمي المسئول عن مهاجمة سكر اللاكتوز . وقد حصل كل من كليين ودودروف Klein and Doudoroff (١٩٥٠) على

نتائج مشابهة في استهلاك سكر الجلو كوز تأقلمياً بواسطة البكتيريا *Pseudomonas putrefaciens* . وعلاقة تكوين الأنزيمات التطوعية بالوراثة قد تم تأكيده من دراسات ليدربرج Lederberg (١٩٥١) على ظاهرة إعادة التشكيل الوراثة recombination بالبكتيريا بالاستعانة بالبكتيريا *E. coli* والتي تضمنت دراسات على الصفات التأقلمية مثل تخمر كل من سكر اللاكتوز والمالتوز .

#### التطبعات المتلاحقة : Simultaneous adaptations

هناك كثير من الأدلة توضح تحكم العوامل الوراثية في انتاج الأنزيمات التأقلمية ، حيث يوجد عامل وراثي (جين) معين لكل انزيم تطبعي في حين أنه ليس هناك تحكم وراثي لتهيئة الطفرات لمهاجمة المواد المختلفة في نفس الوقت عن طريق تكوين انزيمات تأقلمية . إلا أن البكتيريا التي تستجيب تطبعياً إلى مادة تفاعل واحدة يمكنها أن تنتج مواداً وسطية تعمل بدورها كمواد تفاعل لتكوين انزيمات تطوعية أخرى في نفس الوقت . من ذلك نرى أن اضافة مادة تفاعل واحدة يمكنه أن يبدأ سلسلة من التفاعلات chain reaction نتيجة لتكوين عديد من الأنزيمات التطوعية . وقد لاحظ ستانير Stanier (١٩٤٧) هذه الظاهرة لأول مرة وأطلق عليها اسم التطبع المتلاحق simultaneous adaptation واقترح استعمالها كطريقة لمعرفة طبيعة المواد الوسطية في التخليقات الحيوية لبعض المركبات الايضية وتتبع الخطوات المختلفة للتفاعلات الايضية التأقلمية . ومن أمثلة التفاعلات الايضية التي تعتمد على انزيمات تأقلمية والتي درست عن هذا الطريق تأكسد حمض الحليك ومركبات دورة كربس وتأكسد المركبات الحلقية ، وأكسدة التربتوفان والتايروسين والبيورينات .

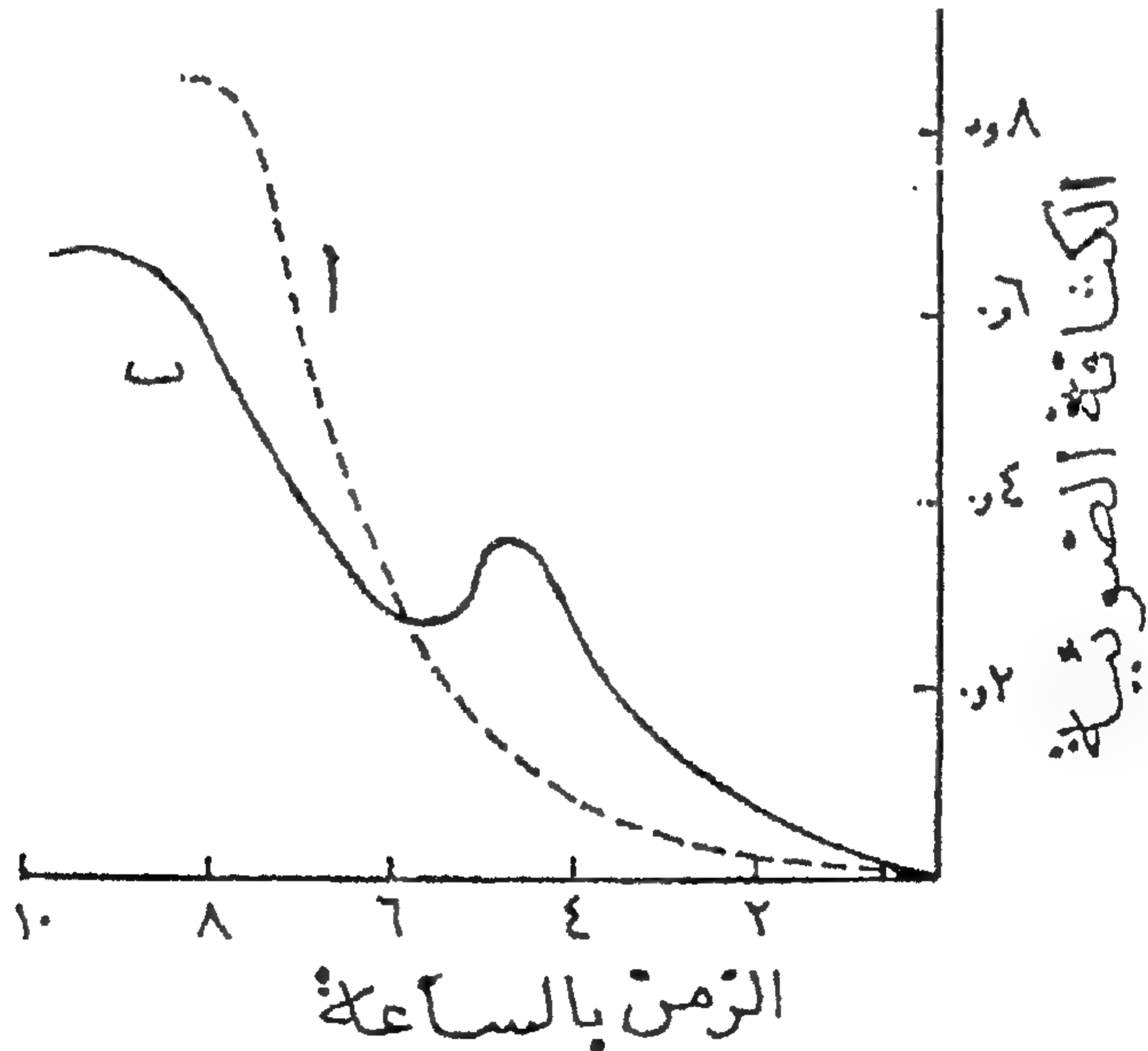
#### تدخل مواد التفاعل في تكوين الانزيمات التأقلمية :

قد تم الحصول على معلومات عديدة فيما يختص بالتدخل التنافسي competitive interaction لبعض مواد التفاعل التي تهاجم تأقلمياً في عمليات تخليق بعض



الأنزيمات التأقلمية المعينة بالخلايا والتي تهاجم مواد تفاعل أخرى . فمثلاً عند تنمية البكتيريا *Bacillus subtilis* في بيئة محتوية على د-فركتوز ، ل - ارايينوز يمكن ملاحظة دورتين متتاليتين للنمو ومنفصلتين عن بعضهما بفترة ركود أو قلة في النمو (شكل ٩٤) . وقد بين Monod (١٩٤٧) أن كل دورة من دورتي النمو تناظر الاستهلاك الكلي لواحد من السكريات المضافة كسل بدوره .

والمادة التي تستعمل في الدورة الثانية للنمو لا تهاجم إطلاقاً إلا بعد استهلاك الخلايا لكل محتويات البيئة من المادة الأولى . وقد دلت الأبحاث أن هذا يرجع إلى أن وجود المادة الأولى تمنع الخلايا من تكوين الأنزيمات التأقلمية الخاصة بمهاجمة



شكل ٩٤ : (أ) منحنى طبيعي لنمو البكتيريا *Bac. subtilis* في بيئة تركيبية محتوية على د- ما نوز كصدر للكربون . (ب) منحنى نمو نفس البكتيريا في بيئة تركيبية تحتوى على سكر د - فركتوز + ل - ارايينوز كصدر للكربون . لاحظ أن المنحنى مزدوج القمة diauxic

المادة الثانية وتعرف هذه الظاهرة باسم المنع التنافسي competitive inhibition .  
وظاهرة التنافس هذه (شكل ٩٤) يبدو أنها تماثل الدورات المتتالية في الزيادة  
في تعداد الخلايا عند حدوث تطفر أو انتخاب بالرغم من اختلاف عامل الوقت  
بين الظاهرتين . من ذلك نرى أن التنافس الخارجي intercellular competition  
(تطفر أو انتخاب) والذي يحدث في مجموع مختلط وراثياً ( of different  
genotype ) يشابه كثيراً التنافس الداخلي intracellular competition  
(تأقلم أنزيمي) والذي يحدث في مجموع متماثل وراثياً of similar genotype  
وأن هذا التشابه قد يقودنا إلى تأييد الافتراض بأن للعوامل السيتوبلازمية  
cytoplasmic factors التي تتكاثر بالخلايا دوراً ملحوظاً في تكوين الأنزيمات  
التأقلمية .

وأخيراً فقد أظهرت الأبحاث أنه ليس من الضروري استمرار وجود  
مادة التفاعل المعينة كشرط مبدئي لتكوين الأنزيم التأقلم في بعض الحالات  
المعينة يتكون انزيم البنسليناز penicillinase (وهو انزيم تأقلم) في خلايا  
البكتيريا *Bac. cereus* عندما تتعرض هذه الخلايا لفترة وجيزة للبنسلين ،  
وأن هذا يكفي لتكوين الخلايا لهذا الأنزيم بكمية كبيرة حتى في غياب مادة  
التفاعل . ولكن وجد أن قدرة البكتيريا على افراز أو إنتاج الأنزيمات  
التأقلمية في غياب مادة تفاعلها لا تستمر طويلاً حيث لا تستمر أكثر من عدة  
أجيال قليلة . وبهذا يمكن تمييز هذه الاختلافات عن تلك الناتجة عن التطفر  
أو الانتخاب .

### ٣ - البلازميدات Plasmids

توجد بالسيتوبلازم عناصر وراثية خارج الكروموسوم لا تندمج  
مع الكروموسوم يطلق عليها البلازميدات Plasmids وقد لوحظت الأهمية  
الطبية للبلازميدات لأول مرة في اليابان في ١٩٥٩ عندما إنتشر مرض الدوسنتاريا  
المتسبب عن بكتيريا وقد أمكن الحصول على عزلات طفيرية من البكتيريا

المسببة على معدل مرتفع جدا مقاومة للمواد الكيماوية الى تستعمل في علاج هذا المرض وهي مركبات السلفاوالاستربتوميسين والكلورامفينيكول والتترا سيكلين . وبدراسة هذه المتنوعات وجد أنها نشأت نتيجة لنقل صفة المقاومة من نوع لآخر بواسطة التركيبات المعروفة بإسم البلازميدات .

والبلازميدات قد تتحكم في عدد من الوظائف وتنتشر بين الأجناس البكتيرية المختلفة . وجدول ١٦ يبين بعض الأنواع البكتيرية المحتوية عليها وكذلك الصفات التي تتحكم فيها .

وكقاعدة عامة فإن الصفات التي تتحكم فيها جينات البلازميدات تضيف للخلية قدرات إضافية لم تكن موجودة بها من قبل ولكن هذه الصفات ليست ضرورية لحياة الخلية أى يمكن للخلية أن تعيش وتتكاثر في غياب البلازميدات

جدول ١٦ : بعض البلازميدات في البكتيريات والصفات التي تتحكم فيها

الكائن	الخاصية
<i>E. coli. Salmonella, Shigelia و Neisseria</i>	المقاومة للمضادات الحيوية .
<i>E. coli</i>	إنتاج الـ Colicin
<i>E. coli</i>	إنتاج الـ Enterotoxin
<i>Pseudomonas</i>	تحطيم أو تكسير الـ Camphor
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	تكوين الأورام في النبات .
<i>Pseudomonas</i>	تحليل الزيت .

ومن المحاميع الأساسية للبلازميدات عوامل المقاومة Resistance or R factors .  
ومن الناحية السطحية فإن عوامل المقاومة تشبه عوامل الحصوية F<sup>+</sup> particles

في ملامح معينة فكلاهما عناصر وراثية خارج الكروموسوم وأنها تتكون من جزئين فعالين نقل المقاومة (RTF) resistance transfer factor. الخاص بنقل البلازميد علاوة على جينات متعددة multiple genes متعلقة بالمقاومة للجراثيم المرتفعة من المواد الكيميائية R genes. ويمكن للخلايا أن تتخلص منه إذا ما عولبت بالـ acridine orange. ومن الملامح المميزة غير العادية للعامل R أنها تنتقل بسرعة من مجموع مقاوم إلى مجموع حساس للمضاد الحيوي عن طريق قريب الشبه بالتزاوج الجنسي وهكذا تمنح المقاومة إلى الخلايا المستقبلية. وكذلك فإن النقل لا يحدث فقط بين سلالات من نفس النوع ولكن أيضا بين أنواع الأجناس المتقاربة مثل

*Salmonella, Shigella, Escherichia, Serratia, Klebsiella, Yersinia, Proteus*

وقد لوحظ أيضا أن العامل R يمكن أيضا أن ينتقل بسرعة بين أعضاء من أجناس أخرى غير متقاربة مثل الأجناس *Pseudomonas* و *Vibrio* وذلك عن طريق التلامس بين الخلايا.

وهناك عدة آراء فيما يختص بنشأ الـ R genes. منها أن بعض جينات المقاومة R genes يمكنها أن تهاجر على أجزاء من أحد وحدات البلازميدات إلى وحدات أخرى من نفس الخلية وكذلك تقدر على القفز Jumping من البلازميد إلى كروموسوم الخلية.

هذه الأجزاء الصغيرة من الـ DNA والتي لا يزيد محتواها أكثر من جين واحد تسمى Transposons وهذه لا تستطيع تكرار نفسها ذاتيا إذا ما وجدت منفردة بل يجب أن ترتبط مع البلازميد أو الكروموسوم لكي يحدث لها تكرار. وقد لوحظ أن الجينات المفردة تكون متماثلة في كل الخلايا إذا ما حملت صفة واحدة. وعلى هذا فكل الجينات المفردة التي تحمل صفة المقاومة للبنسلين R genes تكون متشابهة تماما حتى ولو وجدت في خلايا تنتمي إلى أجناس أو أنواع بكتيرية مختلفة. ويبدو واضحا أن وجود العامل R يمثل تهديدا خطيرا لعلاج الأمراض الميكروبية بالمضادات الحيوية. حيث أن ذلك

يعجل لظهور سلالات مقاومة للمضاد الحيوى لظهور أعداد متزايدة في المجاميع البكتيرية نتيجة للتطفر الذى يعقبه الانتخاب من ناحية وكذلك عن طريق نقل الجينات المقاومة إلى الخلايا الحساسة من ناحية أخرى .

وبالإضافة إلى وجود البلازميدات والتي تعتبر مركز للجينات المتخصصة لمقاومة المضادات الحيوية فإن كثيراً من الجينات الكروموسومية تكون مسئولة أيضاً عن المقاومة لنفس المضادات الحيوية وفي عدد من الحالات تختلف ميكانيكية المقاومة mechanism of resistance لنفس المضاد الحيوى باختلاف الجين المقاوم سواء كان جين كروموسومى أو جين خارج الكروموسوم تحمله البلازميدات .

ويوجد نوع آخر من البلازميدات عبارة عن وحدات وراثية مكونة من الـ ADN يطلق عليها عوامل البكتيريوسين bacteriocin factors وهي عبارة عن أجزاء من الـ DNA بشكل دائرى مغلق يحمل المعلومات الوراثية الخاصة بتخليق المواد المعروفة بأسم bacteriocins وهي مواد بروتينية سامة للخلايا البكتيرية التي تكونها . وقد تحتوي هذه المواد على بروتينين ، و كربوهيدرات كما أن البعض الآخر من هذه المواد يكون له خواص حبيبات الفيروس غير الناضج . وهناك عدد كبير من الـ bacteriocins ذات تخصص مرتفع في فعلها على الخلايا فقد وجد أن الـ Bacteriocins التي تنتج بواسطة نوع معين تقتل فقط السلالات لنفس النوع أو سلالات من أنواع قريبة منه ، ويبدو أنها تعمل عن طريق إتصالها بمواقع إستقبال receptor sites معينة على الخلايا القابلة للإصابة . وأن ميكانيكية قتل الخلية تختلف باختلاف نوع الـ Bacteriocins المتكون .

فتوجد مجموعة تركز تأثيرها على الأغشية السيتوبلازمية ومجموعة أخرى يكون تأثيرها موجهاً إلى الريبوسومات ، ومن الملاحظ أن البكتيريا التي تمتلك هذا النوع من البلازميدات لا تنتج كميات كبيرة من bacteriocin



إلا إذا عوملت بأحد العوامل التطفرية مثل التعرض للأشعة فوق البنفسجية .  
فبعد إجراء هذه المعاملة تنتج الخلايا كميات ملموسة من الـ bacteriocin .  
وبذلك تقتل الخلايا نفسها .

ويستفاد من الـ Bacteriocins في التمييز بين سلالات نفس النوع من  
البكتيريا عند تشخيص الحالات البكتيرية المرضية .

ولو أن كثيرا من البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام تخلق الـ Bacteriocins  
إلا أن المواد المعروفة بالـ Colicins والتي تنتجها *E. coli* هي التي درست أكثر من  
غيرها . ووجد أن بعض العوامل التي تنتج الـ Colicins (Colicinogenic factors)  
تعتبر بلازميدات والبعض الآخر تعتبر إيسومات ، وإذا اندمجت في  
الكروموسوم فإنها تسبب نقل الكروموسوم . كما أنها إذا كانت خارج الكروموسوم  
فإنها تنتقل بسرعة إلى الخلايا المستقبلة .

## المراجع

- Hnschelwood, C.N. 1946. The chemical Kinetics of bacterial cell. Oxford Univ. Press. London.
- Klein, H.P. and Doudoroff, M., 1950. J. Bacteriol. 59 : 739.
- Lederberg, J. 1950. J. Bacteriol., 60 : 381.
- Levy, J., J.J. R. Campbell, and T.H. Blackburn. 1973. Introductory Microbiology. John Wiley and Sons, INC. New York. 684 p.
- Monod, J. and A. Andereau. 1946. Ann. Inst. Pasteur 72 : 868.
- Nester, E.W., C. E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York 769 p.
- Stanier, R.Y. 1947. J. Bacteriol. 54 : 339.
- Stanier, R.Y. 1950. Ann. Rev. Microb., 5 : 35.
- Stanier, R.Y. 1950. Bact. Rev., 14 : 179.

### الفصل الثالث

#### إعادة تشكيلات الصفات الوراثية

#### في البكتيريات المتزاوجة جنسيا

#### Sexual recombination in bacteria

يعتبر التطفر وإعادة تشكيل الصفات الوراثية في الكائنات الراقية التي تتكاثر جنسياً من أهم مصادر التصنيفات .

وفي الحالة الأخيرة تنشأ تصنيفات جديدة نتيجة لإعادة تشكيل الكروموسومات غير المتشابهة أو العوامل المختلفة المتواجدة على كروموسوم واحد ، حيث يشترك كل من الأب والأم في توفير نصف هذه الكروموسومات أو العوامل .

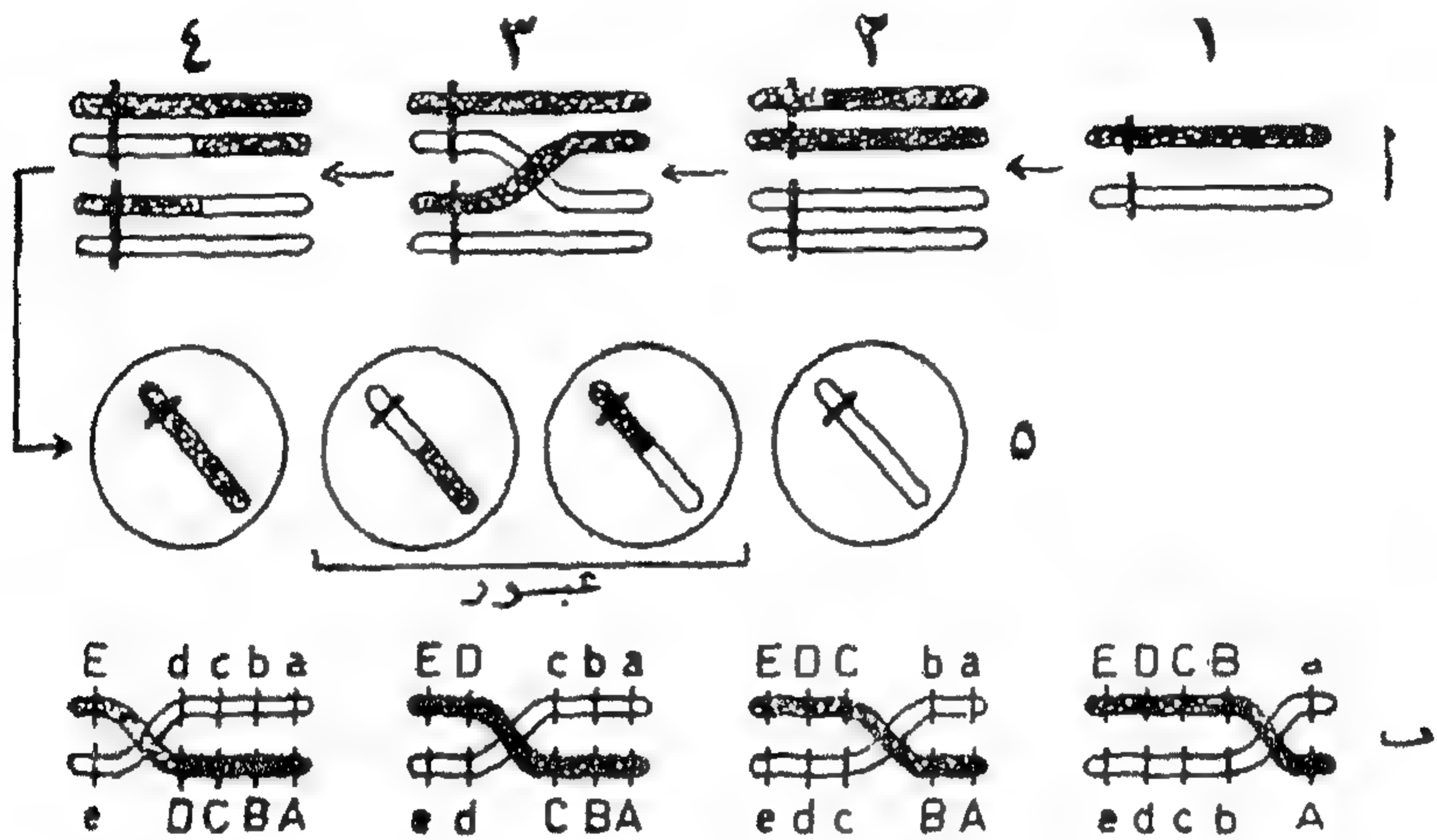
وواضح جداً أن إعادة التشكيل الكروموسومي ينتج عنه تركيبات وراثية جديدة ، وذلك عن طريق حدوث توليفات كروموسومية جديدة بالجاميطات الناتجة . وكل الجينات المحمولة على كروموسوم واحد أو كما يطلق عليها عادة المجموعة الارتباطية linkage group تظل معاً أثناء عملية انعزال الكروموسومات .

وحتى الجينات التي قد تكون محمولة على نفس الكروموسوم يمكن أن يعاد تشكيلها عن طريق عملية تعرف بالعبور crossing over . وفي هذه العملية يحدث تبادل بين الأجزاء الكروموسومية للكروماتيدات الخاصة بنفس الزوج من الكروموسومات ، وقد أمكن إثبات حدوث هذه الظاهرة في الكائنات الراقية عن طريق الدراسات السيتولوجية ، وعن طريق تجارب التربية .

كيفية حدوث العبور بالكائنات الراقية :

يبين (شكل ٩٥) وصفاً مختصراً لتبادل الأجزاء الكروموسومية نتيجة لظاهرة

العبور . وقبل انغزال أفراد كل زوج من الكروموسومات فإنها تكون متصلة طولياً ببعضها بدرجة كبيرة . وعند ذلك الوقت فإنه يمكن تبادل أجزاء منها بطريقة تتضمن حدوث كسر ولحام مباشر .



شكل ٩٥ : (١) رسم تخطيطي يبين خطوات العبور ١ - كروموسوماً متشابهان قمل الإنقسام الاختزالي ٢ - ينشق كل كروموسوم طولياً ويكون كروماتيدتين ٣ - تبادل أجزاء كروماتيدة واحدة من كل كروموسوم ٤ - يتم العبور حيث تتكون كروماتيدتين مختلفتين تظهران في الجاميطات ٥ - بعد إتمام الإنقسام الاختزالي يلاحظ أن الجاميطين من الأربعة تحتوي على نتائج العبور . (ب) رسم تخطيطي لاحتمال حدوث عبور بين خمسة أزواج من الجينات متواجدة على الكروموسومات في أمكنة مختلفة . لاحظ أن كل من العوامل E ، A تنفصل عن بعضها بكل احتمالات العبور الممكن حدوثها .

ويبين «شكل ٩٥» حدوث التبادل بين كروماتيدتين فقط من الأربعة كروماتيدات chromatids الخاصة بزوج كروموسومي ، وتبعاً لذلك فإن جاميطتين من الأربعة جاميطات الناتجة عن عملية الإنقسام الاختزالي meiosis سوف تحتوي على كروموسومات ذات تركيبات وراثية جديدة حدثت نتيجة لحدوث العبور بالكروماتيدات ، فمثلاً إذا كان أحد أفراد زوج الكروموسومات

يحمل العوامل EDCBA وكان الفرد الآخر يحمل العوامل e b c b a ، فإن حدوث عبور بين العوامل B و C أو بين b و c يؤدي إلى حدوث توليفات كروموسومية جديدة هي EDCba ، edc BA .

والجاميطات التي تحمل هذه التشكيلات الكروموسومية الجديدة new recombinants تنقل هذا الترتيب إلى أجيالها المتعاقبة حيث يمكن مشاهدة التغيرات أو التصنيفات التي تظهر عليها ، وحيث أن احتمال حدوث العبور بين العوامل الوراثية المتباعدة عن بعضها على الكروموسوم احتمال كبير ، لذا فقد أمكن عن طريق درجة توزيع الأفراد التي حدث بها عبور frequency of crossing over معرفة ترتيب العوامل الوراثية على الكروموسومات .

وكما هو مبين (بشكل ٩٥) فإن العبور يتم بدرجة أكبر بين العوامل المتباعدة عن بعضها A ، E على الكروموسوم عنها في حالة العوامل المتقاربة ببعضها مثل A ، B وقد استحدث مورجان Morgan (١٩١٥) طريقة تحليل الأفراد الناتجة المتحصل عليها نتيجة للعبور من تجارب التربية في حشرة الدوروسوفيل في رسم خرائط الارتباط linkage maps لكل كروموسوم حيث أمكنه تحديد موقع كل جين على الكروموسوم تبعاً للمسافات التي تحددها وحدات العبور cross over unites .

#### حدوث العبور بسلالة البكتيريا *E. coli* K 12

من الواضح أن ظاهرة إعادة توليف الصفات الوراثية Recombination تحدث فقط في الكائنات التي تتكاثر جنسياً حيث يكون الأب مختلفاً عن الأم وراثياً بمعنى أن كل منها يحمل كروموسومات غير متشابهة وتجمع هذه الكروموسومات المختلفة في الأجيال الناتجة عن التزاوج ينتج عنه تجمعات كروموسومية جديدة .

وحيث أن التكاثر الجنسي في البكتيريا ظل من الأمور المشكوك في حدوثها لفترة طويلة بالرغم من المحاولات التي قام بها كثير من الباحثين لمحاولة مشاهدته

أو اثباته بالبكتيريا عقب الزراعة المختلطة للسلاسل المختلفة من البكتيريا *E. coli* (Browning «١٩٠٨») والبكتيريا *Acetobacter* sp. (Sherman & Wing «١٩٣٧») والبكتيريا *Xanthomonas stewartii* (Gowen & Lincoln «١٩٤٢») إلا أنه في عام ١٩٤٧ تمكن كل من تاتم وليدربيرج Tatum & Lederberg من إعطاء الأدلة الحاسمة على حدوث التزاوج الجنسي والعبور في السلاسل التطورية من سلالة البكتيريا *E. coli* k - 12 حيث استعملت سلالات طفورية ذات قدرة تخليقية ناقصة auxotrophic mutant strains لا تقدر على النمو على بيئة الحد الأدنى minimal medium وعند التنمية المختلطة لسلاسلتين من هذا النوع أمكنها عزل سلالات ذات قدرة تخليقية كاملة prototrophic يمكنها أن تنمو على بيئة الحد الأدنى . وبالفحص الدقيق للسلاسل الناتجة أمكن معرفة أنها عبارة عن تجميع لصفات كل من السلاسلتين ذات القدرة التخليقية الناقصة والتي زرعت معا .

و كانت صفات سلالات الآباء التي استعملها كل من تاتم . وليدربيرج كما يلي :

أحد الآباء (سلالة ٥٨ - ١٦١) تتطلب إضافة المواد الآتية لبيئة الحد الأدنى :-

بيوتين Biotin ( $B^-$ ) . ميثيونين Methionine ( $M^-$ ) الأب الثاني (سلالة W-١١٧٧) تتطلب إضافة المواد التالية لبيئة الحد الأدنى :

ثريونين Threonine ( $T^-$ ) : ليوسين Leucine ( $L^-$ ) ثيامين Thiamine ( $B_1^-$ )

كما أن هذه السلالة كانت تحمل أيضاً العوامل الوراثية التالية علاوة على العوامل السابق ذكرها : ليس لها القدرة على تخمير سكر اللاكتوز ( $lac^-$ ) وسكر المالتوز ( $Mal^-$ ) ، والمانيتول ( $Mtl^-$ ) ، والزيلوز ( $Xyl^-$ ) ، والأرابينوز ( $Ara^-$ ) ، كما أنها كانت مقاومة لتأثير الفيروس البكتيري ( $V_1^T$ ) ومقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين ( $S^T$ ) .



وكما سبق أن بينا أن السلالتين المذكورتين أمكن الحصول عليهما عن طريق سلسلة من الخطوات التطورية الفردية من السلالة البرية K-12 الأصلية ذات القدرة التخليقية الكاملة prototroph .

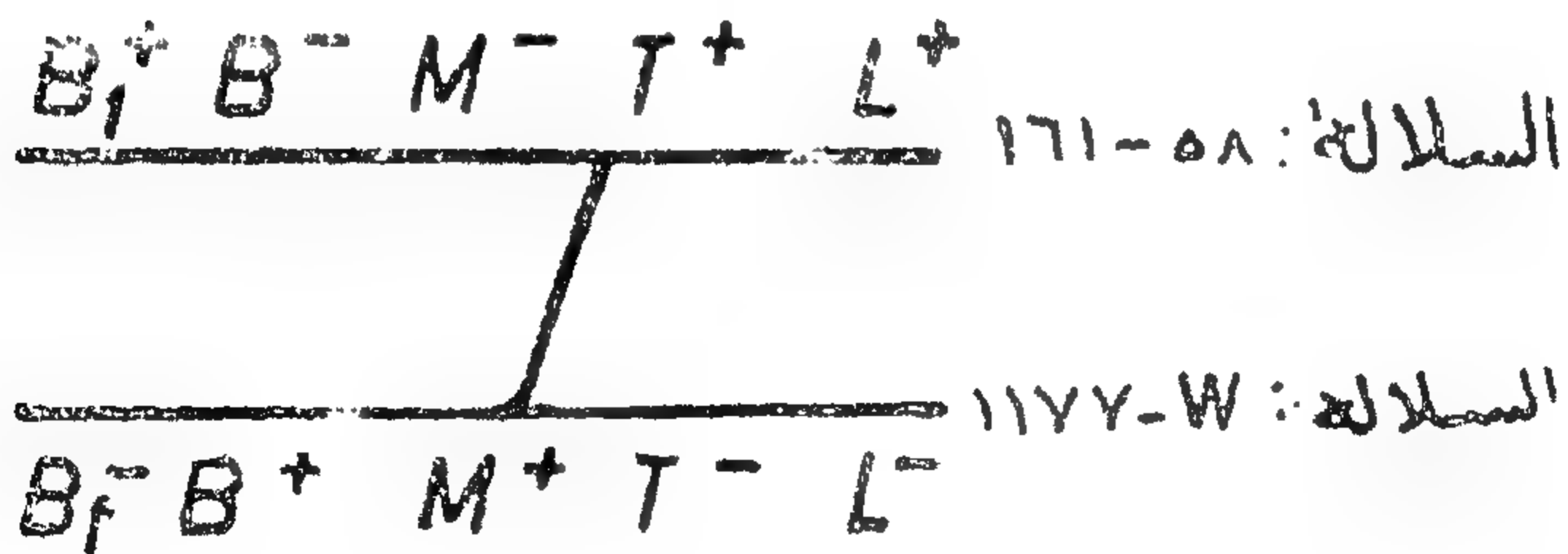
ويمكن للبعض أن يعترض على نتائج تاتم وليدربيرج من ناحية أن السلالات التي أمكن عزلها والقادرة على النمو على بيئة الحد الأدنى protrophic قد لا تكون ناتجة عن التزاوج بين السلالتين auxotrophic بل هي نتيجة إلى التراجع التطوري reversal mutation لذلك فقد احتاط هذان الباحثان لمثل هذا الانتقاد فأوضحا أنها لم يلاحظ التراجع التلقائي لهذه الطفرات ، وأضافا أن مثل هذا التراجع إذا حدث في حالة السلالة الأولى يجب أن يتم في عاملين وراثيين معاً  $B^{-}, M^{-}$  وفي حالة السلالة الثانية في ثلاث عوامل وراثية  $T^{-}, L^{-}, B^{-}$  وأن هذا لا يمكن توقع حدوثه بالمعدل التي نشأت عليه السلالة prototrophic ، كما سبق أن بينا أن التطفر الطبيعي في حالة التراجع في صفة واحدة (جين واحد) مثل :  $B^{-} \leftarrow B^{+}$  يحدث على معدل  $10 \times 10^{-7}$  وأن التراجع في حالة صفتين (جينين) في آن واحد  $B^{-} M^{-} \leftarrow B^{+} M^{+}$  يجب أن يحدث على معدل  $10 \times 10^{-14}$  وفي حالة ثلاث صفات (ثلاث جينات) مثل  $B_1^{-} L^{-} T^{-} \leftarrow B_1^{+} L^{+} T^{+}$  يجب أن يحدث على معدل  $10 \times 10^{-21}$  . ولكن السلالة الكاملة القدرة التخليقية prototrophic والتي عزلها تاتم وليدربيرج بعد الزراعة المختلطة لسلالتين auxotrophic نشأت على معدل  $10 \times 10^{-7}$  فقط بمعنى أن خلية واحدة prototroph نشأت ضمن كل عشرة ملايين خلية زرعت من خلايا كلا الأبوين . وأمكن التعرف على التركيب الوراثي لمثل هذه الخلايا القليلة العدد التي نشأت عقب الزراعة المختلطة وهو  $B_1^{+} L^{+} T^{+} M^{+}$  .

مثل هذه النتائج لا يمكن تفسيرها إلا إذا كانت السلالات المستعملة تتكاثر جنسياً وأن الاتحاد الجنسي sexual fusion بين خلايا الآباء ينشأ عنه هذه التشكيلات الوراثية الجديدة .

وقد أثبتت الدراسات الحديثة باستعمال المجهر الإلكتروني حدوث الالتحام الجنسي بين خلايا البكتيريا *E. coli* والالتحام الجنسي بين خلايا البكتيريا *Agrobacterium tumifaciens* والذي يمكن تأييده بملاحظة الأفراد ذات التشكيلات الوراثية الجديدة والنتيجة عن هذا التزاوج .

فعند تنمية السلالات المذكورة في المثال السابق على بيئة الحد الأدنى المضاف إليها الثيامين فإنه يمكننا أن نعزل عن مثل هذه البيئة السلالة الناتجة عن التزاوج وذات التركيب الوراثي  $B_1^+ M^+ T^+ L^+ B_1^-$  علاوة على السلالات ذات القدرة التخليقية الكاملة  $B_1^+ M^+ T^+ L^+ B_1^+$  protrophic . إلا أن عدد المستعمرات في السلالة الأولى المتطلبة للثيامين ( $B_1^-$ ) يكون أكثر بكثير من السلالة الأخرى التي يمكنها تخليق الثيامين ( $B_1^+$ ) ، ومثل هذه النتائج تبين أن الانعزال لا يحدث عفويا وأن هناك قوى خاصة يمكنها أن تتحكم في احتمال دخول جين من جينات الآباء وإنفصاله عن نظامه الأصلي واشترائه مع الجينات الأخرى ، بمعنى أنه يوجد بالبكتيريا مجموعات إرتباطية linkage groups تشبه تلك التي توجد بالكائنات الراقية .

ولإيضاح ما تقدم يجهل بنا أن نبين التركيب الوراثي لكروموسومات كل من السلالتين المتزاوجتين وكيفية حدوث عبور واحد أو أكثر بكروموسوماتها .

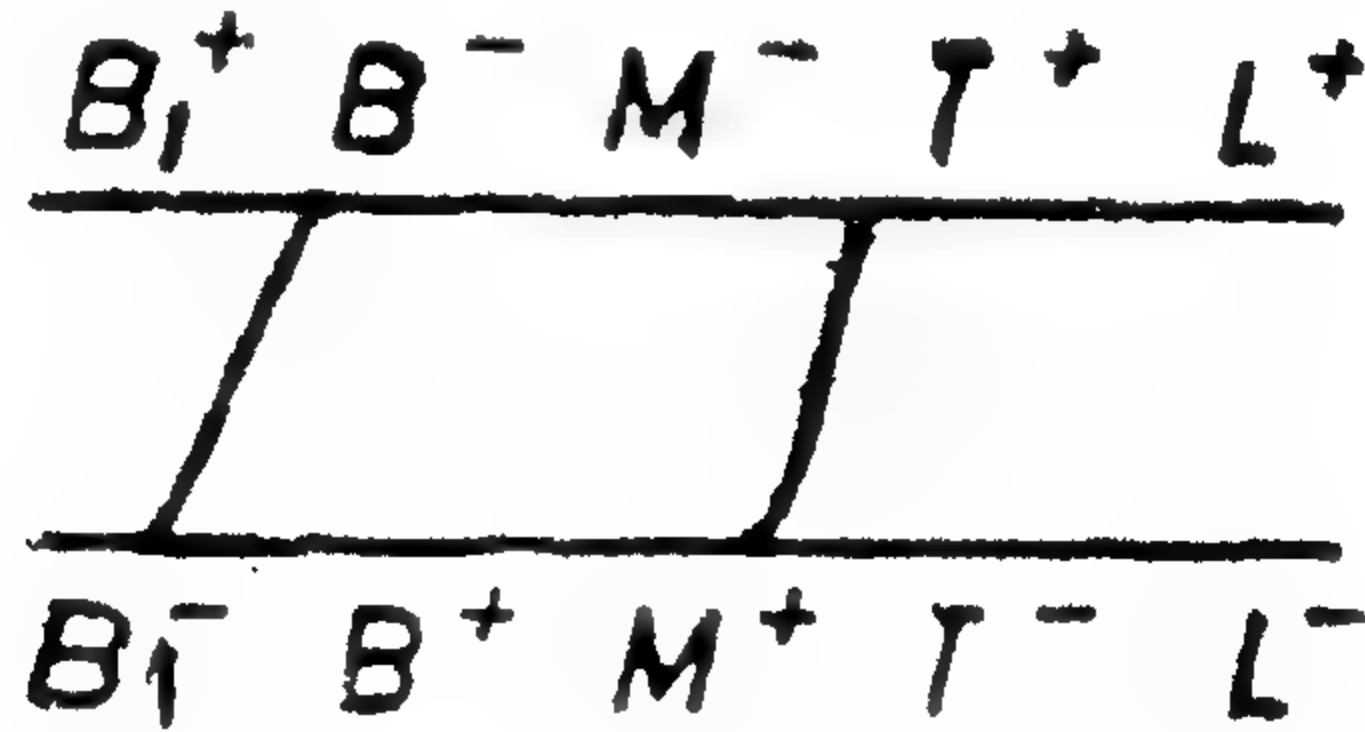


ففي حالة حدوث عبور واحد single cross over بين الجينات M، T فإنه يمكن الحصول على التشكيلات ذات التركيب الوراثي التالي :

$$B_1^- B^+ M^+ T^+ L^+$$

$$B_1^+ B^- M^- T^- L^-$$

في حين أن الحصول على أفراد بالتركيب الوراثي  $B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$  يتطلب حدوث عبور متضاعف بين العوامل  $T$  ،  $M$  و  $B$  ،  $B_1$  كما هو مبين :



هذا واحتمال حدوث عبورين في وقت واحد أقل كثيرا من احتمال حدوث عبور واحد لزوج واحد من الكروموسومات . ويمكن بفحص الصفات المظهرية للسلاسل الناتجة ومدى توزيعها في المجموع التعرف على المجاميع الارتباطية المختلفة . أو بمعنى آخر التعرف على الجينات التي تنتقل معاً وذات الصلات الارتباطية linkage relationships وقد أسفرت هذه الدراسات عن معرفة أن الجينات البكتيرية تكون مرتبة ترتيباً سطحياً مستقيماً . linearly arranged على كروموسومات السلالة K-12 من البكتيريا *E.coli* ومنفصلة عن بعضها بمسافات متساوية وتكون محمولة في مجموعة ارتباطية واحدة ، وأن الأفراد ذات التشكيلات الجينية المختلفة recombinants تحدث نتيجة للتكاثر الجنسي الذي يتضمن امتزاج الخلايا الأبوية ذات العدد المفرد من الكروموسومات haploid parents وقد تأيدت هذه الاستنتاجات فيما بعد باستعمال بعض العوامل الأخرى تعرف بالعوامل غير الانتخابية unselected marker genes والتي لا يتم الانتخاب على أساسها ويمكنها أن تنتقل نتيجة لارتباطها مع العوامل الأخرى . ومن ضمن هذه العوامل غير الانتخابية تلك التي تتحكم في الصفات التخمرية وصفة المقاومة للفيروسات البكتيرية أو المضادات الحيوية وسميت هذه العوامل بالتسمية السابقة ، حيث أن الصفات التي تتحكم بها تظهر عادة في الأفراد الجديدة الناتجة عن التزاوج وذات القدرة

التخليقية الكاملة Prototrophes والتي يمكنها النمو على بيئة الحد الأدنى .  
وحيث أن الصفات الانتخابية selected marker genes مثل الاحتياج  
إلى الأحماض الأمينية أو الفيتامينات والتي ينتخب على أساسها تسمح بالتعرف  
السريع على أفراد الجيل الناتج من التزاوج ، فإن صفات التخمر والمقاومة  
للفيروسات البكتيرية والستربتومايسين والتي تختبر فيما بعد تسمح بتأكيد صحة  
التركيب الوراثي للفرد الجديد الناتج. ولإيضاح ذلك نعود مرة ثانية إلى السلالتين  
الأصليتين المستعملتين :

<u><math>B_1^- B^- M^- T^+ L^+</math></u>	<u><math>Lac^+ Mal^+ Mtl^+ Xyl^+ Gal^+ Ara^+ Vs Ss</math></u>	سلالة ١٦١-٥٨
<u><math>B_1^- B^+ M^+ T^- L^-</math></u>	<u><math>Lac^- Mal^- Mtl^- Xyl^- Gal^- Ara^- Vr Sr</math></u>	١١٧٧-W
Selected Marker genes.	Unselected Marker genes.	

وبالزراعة المختلطة لهاتين السلالتين على بيئة الحد الأدنى يحدث التزاوج  
بينهما ، ويمكن التعرف على كل التوليفات المحتمل حدوثها بين العوامل غير  
الانتخابية وذلك بأختبار القدرة التخمرية للأفراد الناتجة ومعرفة درجة توزيع  
كل منهما في المجموع حيث يمكن ملاحظة إختلافات في تعداد كل منها، الأمر  
الذي يبين درجة التفاوت بين المجاميع الإرتباطية ، أو بمعنى آخر يبين إختلاف  
المسافات بين الجينات المختلفة والأمثلة التالية توضح ما تقدم .

$B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$	$Lac^+ Mal^- Mtl^- Xyl^+ Gal^+ Ara^+ V_{1s} S^s$
$B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$	$Lac^- Mal^+ Mtl^+ Xyl^- Gal^- Ara^+ V_{1r} S^r$
$B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$	$Lac^- Mal^- Mtl^+ Xyl^+ Gal^- Ara^+ V_{1r} S^s$
$B_1^+ B^+ M^+ T^+ L^+$	$Lac^+ Mal^+ Mtl^- Xyl^- Gal^+ Ara^+ V_{1s} S^r$

وعلاوة على ذلك فأن هناك من البراهين الوراثية الأخرى ما يؤيد حدوث  
التزاوج الجنسي بالبكتيريا نسوق منها المثال التالى :

إذا افترضنا أن انعزال الصفات يحدث عن طريق الصدفة فإن التهجينات العكسية reciprocal crosses يجب أن تسفر عن نتائج متطابقة فيما يختص وصفات الأفراد الناتجة عن التزاوج .

فمثلا إذا أجرى التهجينان التاليان :

$$\underline{B^- M^- T^+ V_1^S} \times \underline{B^+ M^+ T^- V_1^r} \quad (1)$$

$$\underline{B^- M^- T^+ V_1^r} \times \underline{B^+ M^+ T^- V_1^s} \quad (Y)$$

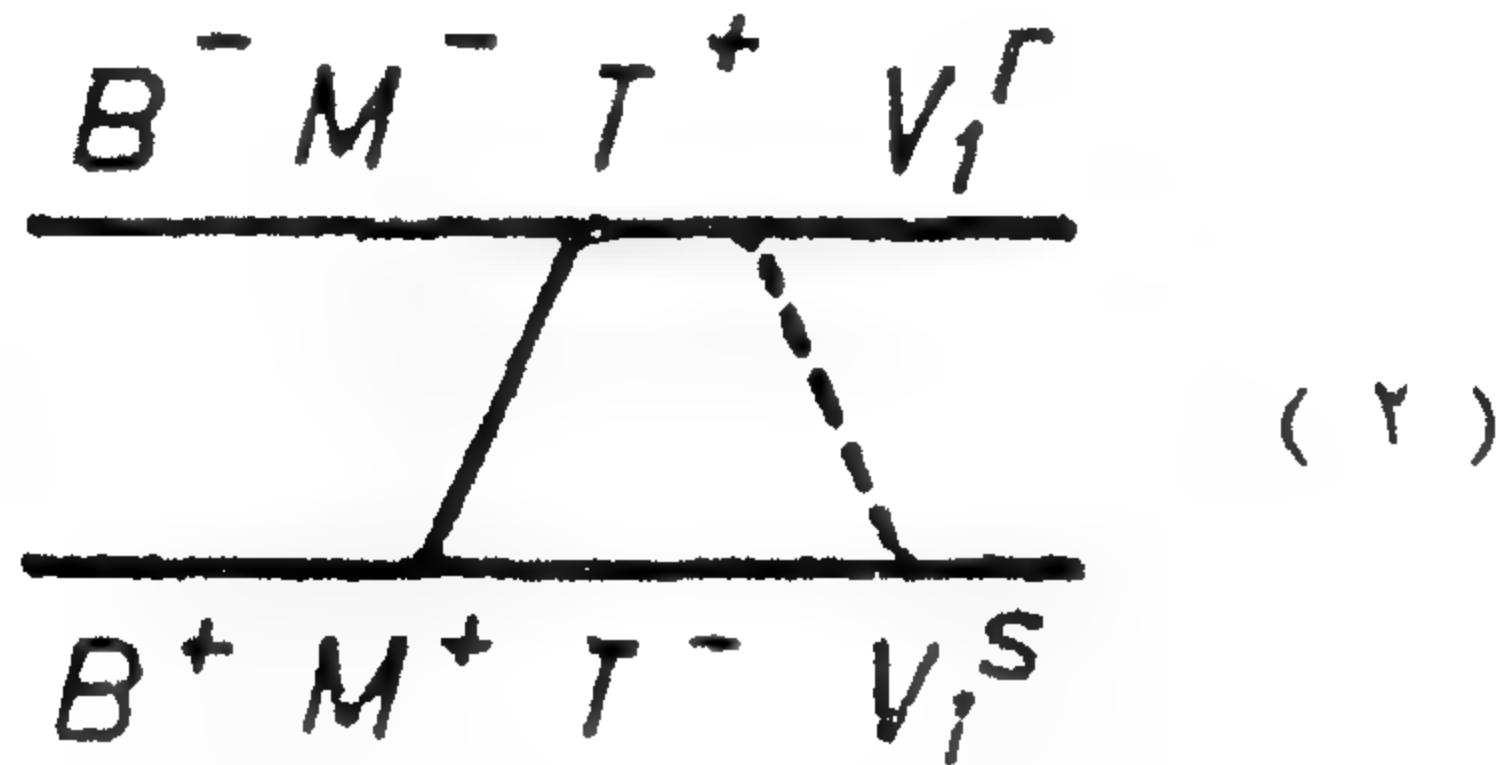
يجب أن ينتج عنها أفراد متطابقة تماماً حيث توفر صفة المقاومة للفيروس البكتيري في أحد الآباء المستعملة بالتبادل ، وفي الحقيقة فإن غالبية السلالات القادرة على النمو في بيئة الحد الأدنى protrophs والتي تظهر عقب التهجين رقم (١) تكون حساسة للفيروس البكتيري ، في حين أن غالبية الأفراد التي تعزل من ناتج التهجين رقم (٢) تكون مقاومة للفيروس البكتيري . وهذا يعني أن حدوث عبور واحد يتم بين العوامل (M، T) وأن ذلك يربط بين صفة الحساسية للفيروس البكتيري مع الجينات الموجبة (+) .

في حين أنه يلزم حدوث عبورين أحدهما في المنطقة بين  $(T, M)$  والآخر



فى المنطقة بين ( $V, T$ ) لربط صفة المقاومة للفيرس البكتيرى مع الجينات الموجبة فى حالة التهجين رقم (١) .

وفى حالة التهجين رقم (٢) فانه يكون العكس صحيح بالنسبة للمقاومة للفيرس البكتيرى .



فعند حدوث عبور واحد ترتبط العوامل الموجبة مع صفة المقاومة للفيرس البكتيرى فى حين يلزم عبورين لربط العوامل الموجبة مع صفة الحساسية للفيرس البكتيرى .

وكما سبق أن ذكرنا أن احتمال حدوث عبور واحد أكثر بكثير من احتمال حدوث عبورين .

وقد بين Lederberg (١٩٥٠) ، أن صفة المقاومة للمواد الكيماوية السامة يمكن استعمالها كعوامل إنتخابية selective markers فى تجارب التهجينات البكتيرية ، فعندما هجنت سلالة بكتيرية مقاومة للستربتومايسين (Sr) مع سلالة مقاومة للمركبات (الأزيد) Azides ( $az^r$ ) من البكتيريا  $E. coli$  K - 12 على بيئة تحتوى على كل من المادتين الكيماويتين أمكن عزل عدد قليل من مستعمرات سلالة مقاومة لكل منهما ( $Sr-az^r$ ) يمكنها أن تنمو على مثل هذه البيئة فى حين أن السلالات الأصلية التى استعملت لا تقدر على النمو فيها عدا الطفرات التلقائية التى تحدث بين الخلايا المقاومة للأزيد ( $az^r$ ) أو المقاومة للستربتومايسين (Sr) نحو مقاومة المادة الأخرى . وقد وجد

ليدربيرج أن معدل حدوث هذه الطفرات يتم في خلية واحدة لكل  $7 \times 10^9$  خلايا ،  $7$  خلايا لكل  $1 \times 10^9$  من الخلايا المستعملة .

ووجود العوامل غير الانتخابية unselected markers مثل عوامل التخمر في خلايا الآباء المستعملة مكن من معرفة أن ٩٣٪ من السلالات ذات المقاومة المزدوجة لكلا المادتين الكيماويتين نتجت عن طريق التزاوج الجنسي وحدث التهجين بين خلايا سلالتى الآباء . وقد أضاف ليدربيرج أن عزل الطفرات المقاومة للمواد الكيماوية يعتبر أسهل بكثير من عزل الطفرات الناقصة غذائياً . وبالرغم من ذلك فإن استعمال مثل هذه السلالات المقاومة لدراسة التهجينات البكتيرية لم تستعمل بعد في هذا المجال .

### ميكانيكية حدوث التكاثر الجنسي في البكتيريا :

لقد أوضح ديفيز Davis في سنة ١٩٥٠ بالدليل القاطع أن التكاثر الجنسي بين سلالات البكتيريا يلزمه حدوث تلامس حقيقى بين الخلايا المتزاوجة . وقد تم له ذلك بإستعمال أنبوبة على شكل حرف U يفصل بين زراعيها مرشح زجاجى sintered glass filter ملئت ببيئة سائلة ونمت بكل زراع سلالة من السلالتين المتزاوجتين وأثناء النمو دفعت البيئة خلال المرشح بواسطة ضغط الهواء ليساعد في مرور الجزيئات ولكن لا تمرر الخلايا خلال ثقوب المرشح . وعقب السماح للنمو لفترة كافية لم يتمكن من عزل خلايا بروتوتروفية (تراكيب وراثية جديدة) ، أى من الزراعين ولكن بإزاحة المرشح مما يسمح بحدوث تلامس حقيقى بين الخلايا أمكنه عزل خلايا بروتوتروفية .

قد ظهر أيضا أنه يوجد طرز تزاوجيه mating types في *E. coli* K - 12 فعند زرع سلالتين أحدهما تحتاج إلى الميثيونين ( $M^-$ ) وأخرى تحتاج إلى ثريونين وليوسين وفيتامين ب<sub>١</sub> ( $T^- L^- B_1^-$ ) على بيئة آجار لعزل تراكيب وراثية جديدة تمكن هايز Hayes في سنة ١٩٥٢ من إثبات أن الأبوين المتزاوجين لم يكونا متساويين تماما فقد وجد أن الأب ( $M^-$ ) يحتفظ بخصوبته حتى بعد

معاملته بالإستربتوميسين . أما الأب الآخر فتتأثر خصوبته بالتعرض للأستربتوميسين . ولتوضيح هذه الملاحظة افترض أن الأب ( $M^-$ ) يعمل كمعطى المادة الواثية genetic donor حتى ولو توقف عن النمو بواسطة المضاد الحيوى أما الأب الآخر ( $T^- L^- B_1^-$ ) فيعمل كمستقبل للمادة الوراثية genetic recipient ولذلك يجب أن تكون السلالة الثانية حية لكي تستقبل المادة الوراثية .

ثم قام عديد من البحاث مثل هايز Hayes وليدربيرج Lederbergs وكافالى Cavalli بتجارب هامة وعديدة تتلخص أهم نتائجهم فى الآتى :-

أ - خلايا  $E. coli K-12$  توجد فى أحد حالتين جنسيتين هما  $F^+$  (مشتقة من كلمة Fertility خصوبة) و  $F^-$  . وتعتبر الخلايا  $F^+$  معطية للمادة الوراثية أى ذكور أما الخلايا  $F^-$  فتعتبر مستقبلة للمادة الوراثية أى إناث .

ب - التلقيحات  $F^+ \times F^-$  تعتبر خصبة وتعطى تراكيب وراثية جديدة على معدل بين  $10^0$  إلى  $10^1$  والتلقيحات  $F^- \times F^-$  تعتبر عقيمة ولا تعطى تراكيب وراثية جديدة والتلقيحات  $F^- \times F^+$  فتعطى معدل منخفض جدا من التراكيب الوراثية الجديدة . حيث أن بعض خلايا  $F^+$  تسلك فى المزارع من الناحية المظهرية مثل  $F^-$  . وهذا التأثير المظهرى يظهر بإستعمال مزرعة من  $F^+$  فى مرحلة فى طور الثبات بعد التنمية فى ظروف تهوية عالية .

ج - خلايا الـ  $F^+$  تحمل عامل قابل للإنتقال (العامل F) وأن الخلايا  $F^-$  تستقبل العامل F وبذلك تتحول إلى الحالة  $F^+$  . ويبدو أن العامل F يتكاثر ذاتيا وبسرعة أكبر من سرعة إنقسام الخلايا . وبذلك فإن إدخال عدد قليل من الخلايا  $F^+$  إلى مزرعة  $F^-$  يجعل صفة  $F^+$  تنتقل إلى كل المجموع . وفى سنة ١٩٥٠ إكتشف كافالى Cavalli نوعا آخر من الذكور أطلق

عليه Hfr males (high frequency recombination) .

فقد حصل كافالى على مزرعة من السلالة ( $M^-$ ) وعندما لقحت هذه

المزرعة مع سلالة ( $T^-L^-B_1^-$ ) تكونت تراكييب وراثية جديدة على معدل يزيد آلاف المرات عما لو إستعملت السلالة الأصلية ( $M^-$ ) ووجد أن السلالة Hfr تعتبر معطية للمادة الوراثية وأن خصوبتها لا تتأثر بواسطة الإستربتوميسين. وبعكس الـ  $F^+$  فأنها لا تنقل عادة العامل F إلى الخلايا المستقبلة  $F^-$ . والتراكييب الوراثية الجديدة الناتجة عن التلقيح  $Hfr \times F^-$  كانت بإستمرار  $F^-$  فيما عدا حالات نادرة. وإستنتج أن تحول الخلايا من  $F^+$  إلى Hfr أدى إلى غياب العامل F كعامل قابل للإنتقال ولا يتكاثر ذاتياً.

وتمكن جاكوب Jacob وولمان Wollman في ١٩٥٥ و ١٩٥٧ و ١٩٥٨ من توضيح العلاقة بين  $F^+$  و Hfr وإقترحوا أن نقل الجينات بواسطة مزارع  $F^+$  تعزى فقط إلى وجود نسبة بسيطة من الـ Hfr والتي نتجت من خلايا  $F^+$  ووجدوا كذلك إنه يمكن عزل خلايا Hfr من مجموع  $F^+$  عن طريق الطبع المتكرر Replica plating التي تستعمل لعزل الطفرات وأمكن إيضاح الحقائق الآتية :-

أ- الكروموسوم في حالة السلالة  $F^+$  دائري مغلق وغير متصل بالعامل F والموجود خارج الكروموسوم.

ب - في حالة خلايا Hfr فإن العامل F يكسر الحلقة في نقطة معينة ليصبح الكروموسوم خيطي مفتوح.

ج - أن هذا الكروموسوم الخيطي ينتقل بواسطة الخلية الممثلة ، وأن العامل F يكون في أحد الأطراف أما الطرف الآخر فيتسود عملية نقل الكروموسوم Leading part .

د - المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية تشجع تحويل العامل F الموجود خارج الكروموسوم إلى الحالة الكروموسومية . وشكل ٩٦ يوضح العلاقة بين  $F^+$  و Hfr في حالة الخلية  $F^+$  فإن العامل F يكون خارج الكروموسوم

وأن الكروموسوم يكون في صورة حلقة مغلقة وعند التحول إلى Hfr فإن العامل F يندمج مع الكروموسوم والذي يصبح تركيب مفتوح . ويلاحظ أن العامل F يكون متصل مع أحد النهايتين وأن الطرف الآخر يكون هو الجزء الذي يقود نقل الجينات leading part حيث أنه كلما بعد العامل الوراثي عن الجزء القائد كلما قل احتمال ظهوره في التراكيب الوراثية الجديدة. وحيث أن العامل F يمكن أن يدخل الكروموسوم عند أي نقطة في الكروموسوم فإن السلوك الوراثي للـ Hfr يختلف في التنوعات variants المختلفة لها فإذا فتح الكروموسوم بين A و B فإن نظام نقل الجينات يكون BCDEA(F) ، أما إذا دخل العامل F بين D و E فإن نظام نقل الجينات يكون DCBAE (F) (شكل ٩٦) .

وعلى ذلك فإن كل تنوع من الـ Hfr ينقل جين معين على معدل مرتفع وعلى ذلك فإن تنوعات أو سلالات Hfr تعرف بالجين الذي ينقل أولاً . ولقد إستحق العالم جاكوب Jacob في ١٩٦٥ جائزة نوبل لبعثته في هذا المجال فإنه مع زملائه الفرنسيين أظهروا تصوراً علمياً جديداً - حيث أن نفس قطعة الـ DNA توجد خارج الكروموسوم في السيتوبلازم أو تدخل الكروموسوم وهذه الوحدات الوراثية تسمى البلازميدات .

وتعتبر الخلايا  $F^+$  هي خلايا بها قطع صغيرة من الـ DNA (العامل F) في السيتوبلازم ولا تعتبر جزء من الكروموسوم أي DNA خارج الكروموسوم extrachromosomal DNA وتوجد في صورة شريط مزدوج والشريط على هيئة جزيء DNA في صورة حلقة مغلقة . وتمثل هذه القطعة الصغيرة تقريباً ١٪ من حجم الكروموسوم ويتكاثر مستقلاً عن الكروموسوم وحيث أن هذا الـ DNA يحمل معلومات وراثية فإن خلايا الـ  $F^+$  تخلق بروتينات لا تستطيع خلايا الـ  $F^+$  أن تخلقها وأهمها البروتين الخاص بالـ F-pili أو الـ Sex pili .

وعندما يوجد مجموع من خلايا  $F^+$  وخلايا  $F^-$  فإن خلايا الـ  $F^+$  تلتصق بخلايا  $F^-$  بواسطة الـ F-pili وخلال دقائق فإن واحدة من العامل  $F^-$  من



الخلايا الذكورية تدخل الخلايا المستقبلية. ومن المعروف حالياً أن نقل الكروموسوم الكامل من Hfr إلى خلايا  $F^-$  يحتاج إلى حوالى ٩٠ دقيقة. وأن معدل النقل يكون ثابت خلال التزاوج فبعد ٣٠ دقيقة من التزاوج ينقل  $\frac{1}{4}$  - الكروموسوم وبعد ٤٥ دقيقة يتم نقل  $\frac{1}{4}$  الكروموسوم وهكذا. وتمت هذه التجارب بإستعمال الفوسفور المعلوم  $^{32}P$  الداخلى فى تركيب الـ DNA الخاص بالخلايا Hfr. ونظراً لأن الـ pilus التى تمسك الخليتين معا ليست بالقوة الكافية فى معظم الأحيان ينكسر الكروموسوم قبل دخوله بالكامل إلى داخل الخلية المستقبلية ولذلك تظل معظم الخلايا المستقبلية  $F^-$ .

ووجد أيضاً حبيبات خارج الكروموسوم وهى تشمل العامل F مع قطع من الكروموسوم وتسمى هذه الحبيبات خارج الكروموسوم  $F'$  (F prime). والسلالة التى تنقل هذه الحبيبات تسمى  $F'$  strains.

وهذه السلالات تنشأ بالطريقة الآتية :-

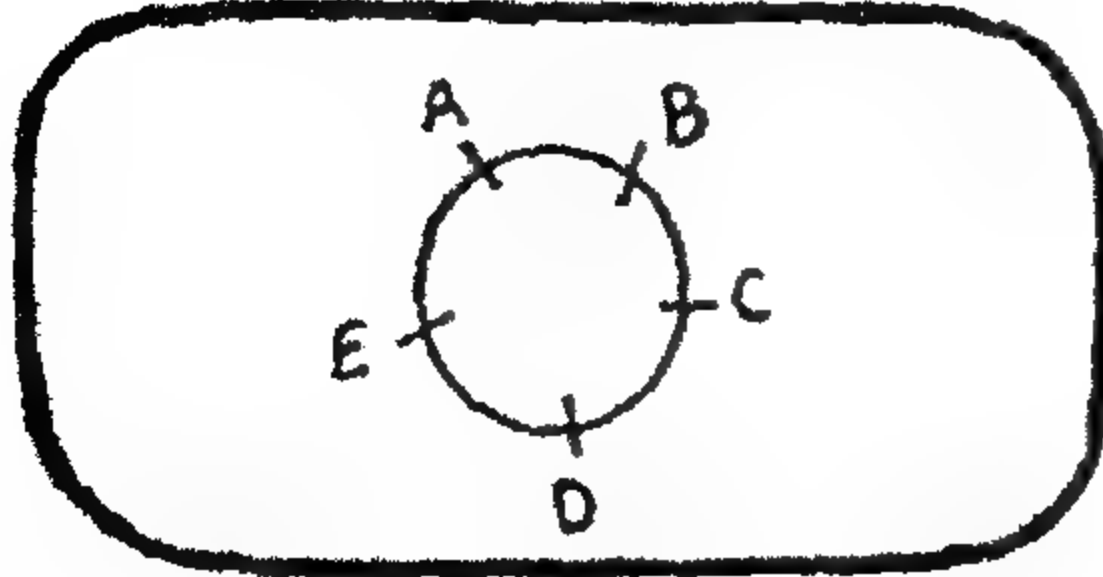
حيث أن العامل  $H$  يمكن أن يدخل فى تركيب الكروموسوم فى أحوال نادرة يمكن أن ينفصل من الكروموسوم مرة أخرى ويبقى خارج الكروموسوم. وأثناء الانفصال يحمل معه غالباً بعض من DNA الكروموسوم والى تكون قريبة من العامل  $H$ . هذه الحبيبات لها خاصية العامل  $H$  فى أنها تنتقل بسرعة وكفاءة إلى الخلايا  $H^-$  وبذلك تنقل أيضاً جينات كروموسومية إلى الخلايا  $H^-$ .

وحيث أن الخلية المستقبلية يكون بها الجينات الكروموسومية المحمولة على حبيبات  $F'$  فإن الخلايا المستقبلية ستكون diploid لهذه الجينات القليلة العدد. وحبيبات الـ  $F'$  ستبقى خارج الكروموسوم فيما عدا حالات نادرة فإنها تدخل فى الكروموسوم.

انتشار ظاهرة إعادة التشكيل الوراثى بالبكتيريا المختلفة :

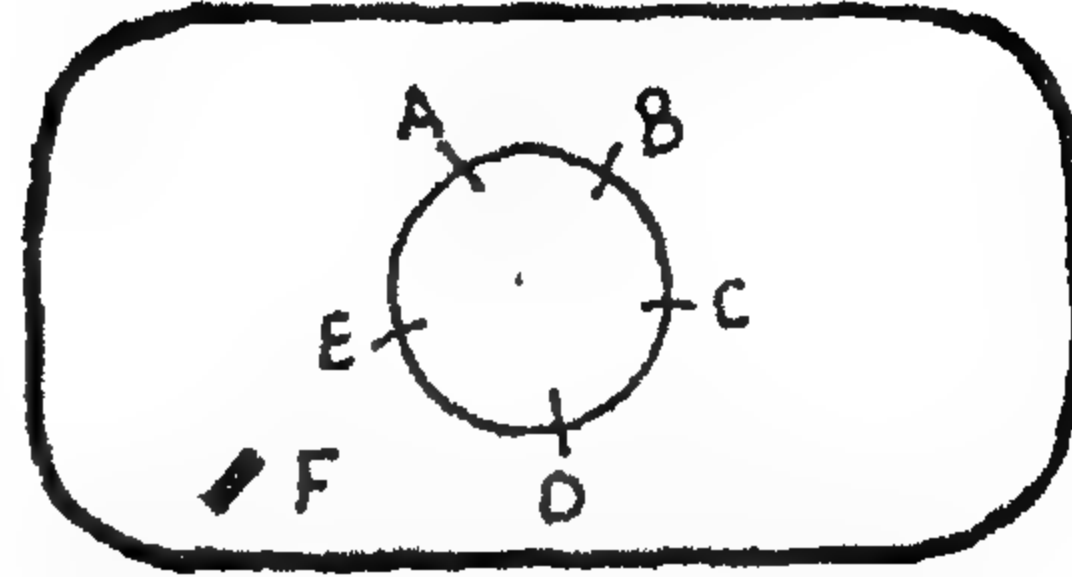
معظم الدراسات الخاصة بالتهجينات البكتيرية تمت على البكتيريا *E. coli* K-12 والى تعتبر نموذجاً مثالياً لمجموعة بكتيريا القولون coliform group.

خلية  $F^-$



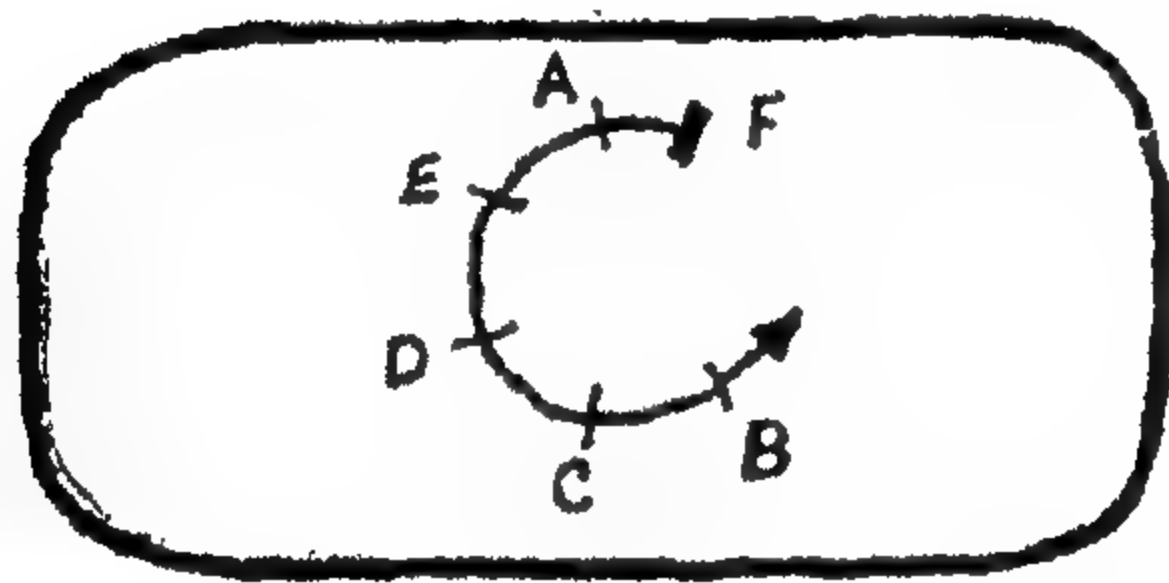
لا يوجد العامل F

خلية  $F^+$

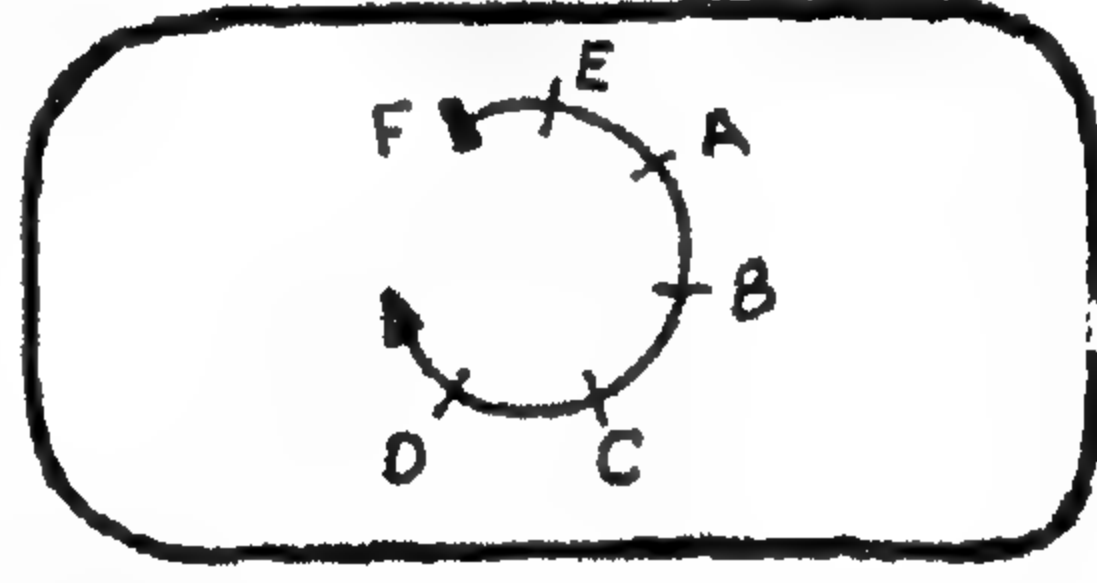


الكروموسوم حلقة مغلقة  
والعامل F يوجد في حالة  
سيتوبلازمية

سلالات Hfr



دخل العامل F بين A و B فيكون  
الجزء القيادي *Leading part*  
هو B ، وأن ترتيب نقل العوامل  
هو : BCDEA (F factor)



دخل العامل F بين E و D وعلى  
ذلك يكون الجزء القيادي ....  
*Leading part* هو D ، وأن  
ترتيب نقل العوامل إلى الخلية المستقبليّة  
هو : DCBAE (F factor)

شكل ٩٦ : رسم تخطيطي يوضح العلاقة بين سلالات  $F^+$  و  $F^-$  و Hfr .

والتي تم الحصول عليها من براز الانسان . والمحاولات الأخرى التي أجريت  
للابحث عن إمكان حدوث التهجينات بين السلالات الأخرى مثل السلالة (B)  
باعت جميعها بالفشل ، فيما عدا طفرة واحدة من السلالة (B) أمكن تهجينها  
مع أحد طفرات السلالة  $K_{12}$  . وبالرغم من ندرة السلالات الخصبية جنسياً  
فقد أختبر ليدر بيرج (١٩٥١) عددا كبيرا من سلالات البكتيريا *E. coli*

عزلت من براز الانسان وروث الدواجن لمحاولة تهجينها بالسلالة K-12 باستعمال صفة المقاومة للستربتومايسين والقدرة الكاملة نسبياً على التخليق الحيوى prototrophy كعوامل انتخابية .

وأُسفرت النتائج عن وجود ٨٪ من السلالات المعزولة من براز الانسان وسلالة واحدة من الأربعين سلالة المعزولة من روث الدواجن يمكنها التهجين مع السلالة K-12 . من ذلك يمكن القول أن هناك سلالات غير K-12 يمكن تهجينها .

وقد قامت محاولات محدودة لتهجين البكتيريات الأخرى ، وقد أوضح McLory (١٩٥١) أن البكتيريات التى يحتمل حدوث تهجينات بها ، بالرغم من عدم وجود الأدلة المادية على ذلك ، السلالات ذاتية التغذية من البكتيريا *Achromobacter fischeri* ، كما قامت عدة محاولات لإكتشاف حدوث التهجين فى سلالات البكتيريا التابعة للأجناس *Salmonella* و *Pseudomonas* و *Serratia* و *Aerobacter* .

بعض المواضيع التى تختبر عن طريق دراسة إعادة التشكيل الوراثى للبكتيريات :  
إن دراسة التشكيلات الوراثية البكتيرية تزود الدارس للوراثة بالبكتيريا بنفس الفوائد التى توفرها مثل هذه الدراسات لدارسى وراثة الكائنات الراقية .  
فهى أولاً توضح التحكم الوراثى للصفات المعرضة للتغير ، وأنها تثبت الطبيعة التطورية لتصنيفات البكتيرية وحيث أن عملية العبور تتضمن تبادل أجزاء كروموسومية فإن هذه الدراسات يمكن عن طريقها التمييز بين الصفات التى تتحكم فيها عوامل نووية والأخرى التى تكون محكومة بعوامل سيتوبلازمية .  
وبالإضافة إلى ما تقدم فإن العلاقات الارتباطية بين العوامل الوراثية والسى يمكن معرفتها بأختبار صفات الأفراد الناتجة عن التهجين تسمح بتحليل العلاقة بين العوامل الوراثية التى تتحكم فى مجموعة من الصفات المتقاربة . فمثلاً قد تم دراسة العلاقة بين صفة المقاومة للمضاد الحيوى ستربتومايسين وبين صفة

الإعتماد عليه للنمو ، في الطفرات الناتجة من البكتيريا *E.coli K-12* وذلك بإجراء تهجينها معاً ، وكذلك مع السلالات الحساسة لتأثير هذا المضاد الحيوى .

وقد أسفرت الدراسات التى قام بها Newcombe (١٩٥٠) عن أن صفتى المقاومة أو الإعتماد على المضاد الحيوى تورثان وكأنهما محمولتان على مكان واحد من الكروموسوم ، وأنه لم يحدث عبور بين العوامل التى تتحكم فى هاتين الصفتين . ومثل هذه الظاهرة التى تتضمن التحكم فى مجموعة من الصفات المتقاربة والتى تختلف عن بعضها كميّاً نتيجة للتغيرات المتعاقبة alternative changes والتى تحدث فى نفس المكان من الكروموسوم تعرف بالعوامل المتعددة « multiple alleles » فى الكائنات الراقية . وكثير من الطفرات المقاومة أو الحساسة للستربتوميسين والتى يمكن إشتقاقها من السلالات المعتمدة على هذا المضاد الحيوى يبدو أنها تتبع هذه المجموعة من العوامل المتعددة . وهناك موضوع آخر أمكن دراسته عن طريق إعادة التشكيل الوراثى للبكتيريا وهو إستعمال السلالات الزوجية الكروموسومات diploid strains والتى يحدث لها الإنعزال بعد فترة من حدوث التزاوج لدراسة العوامل الوراثية التطفرية بمشيلاتها الطبيعية ، فمثلاً إجراء تهجين بين سلالة حساسة للستربتوميسين (+) وأخرى مقاومة للستربتوميسين (Sr) قد يؤدى إلى ظهور عدد من الأفراد الزوجية الكروموسومات غير المتشابهة diploid heterozygotes والتى تحمل كلا من العامل (+) والعامل (Sr) . وهذه الخلايا (+Sr) وجد أنها تكون حساسة لفعل المضاد الحيوى ستربتوميسين ، بمعنى أن صفة الحساسية لهذا المضاد الحيوى تكون سائدة على صفة المقاومة .

و حيث أن معظم البكتريات تعتبر فردية الكروموسومات haploid ، فإن سيادة العوامل الوراثية تكون قليلة الأهمية فى دراسة الوراثة البكتيرية على الأقل بالنسبة للمقاومة أو الحساسية للمضادات الحيوية . وكما سبق أن ذكرنا فإن غالبية البكتيريا تكون عديدة الأنوية multinucleated على الأقل فى أثناء بعض أطوار نموها . فاذا حدثت طفرة لمقاومة مضاد حيوى معين فى نواة

واحدة مثل (Sr) فأنها تكون حينئذ غير قادرة على الظهور ، حيث أن العوامل (+) العديدة والموجودة بالنوايا الأخرى تظهر تأثيرها السائد . لذلك يلزم مرور وقت معين يعرف بفترة السكون phenotypic lag قبل مشاهدة أو لمس صفات الطفرة المتكونة ، ينقضي خلالها عدة أجيال تتضمن حدوث عدة إنقسامات يزيد فيها تعداد الأنوية المحتوية على (Sr) بدرجة تسمح بظهورها وقد سبق الإشارة إلى هذه الظاهرة بالفصل السابق من هذا الباب .

## المراجع

- Browning, C.H. 1908, J. Path. Bacteriol. 12 : 166.  
Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. Twentieth Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia 1035p.  
Hayes, W. 1952. Nature 169 : 118.  
Lederberg, J., E.M. Lederberg, N.D. Zender and E.R. Lively. 1951. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16 : 413.  
Lederberg, J. 1947. Genetics 25 : 505.  
Lederberg, J. 1950. J. Bacteriol. 59 : 211.  
Lederberg, J. 1949. Proc. Nat. Acad. Sci. 35 : 178.  
Lederberg, J. 1951. J. Bacteriol. 16 : 549.  
Lederberg, J. 1951. Science 114 : 68.  
McLory, W.D. and Friedman, S. 1951. J. Bacteriol. 62 : 124.  
Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston. New York. 769p.  
Newcombe, H.B. and M.H. Nyhom. 1950. Genetics 35 : 603.  
Tatum, E.L. and J. Lederberg. 1947. J. Bacteriol 53 : 673.



# الفصل الرابع

## ظاهرتى التحول الوراثى

### Transduction — Transformation

ذكرنا فيما سبق أن الطفرات التلقائية وغيرها من التغيرات التى تحدث فى الصفات الوراثية تتميز بأنها غير موجهة كلية ، وتكون دائماً مستقلة فى حدوثها عن العوامل البيئية التى تكون أقدر على إنتخابها .

ويأمل علماء الميكروبيولوجيا وكذلك علماء الوراثة فى التوصل إلى طرق من شأنها أحداث طفرات صناعية معينة تتوفر فيها صفات معينة عند الرغبة فى ذلك ، وقد بدا هذا الحلم قريباً من التحقيق عندما وجد بعض العلماء أنه يمكن تغيير الصفات الوراثية لبعض الأنواع البكتيرية تحت تأثير DNA الذى يعزل من سلالات أخرى مختلفة فى صفاتها ولكنها تنتمى لنفس النوع البكتيرى . وحيث أن العوامل الوراثية بالكائنات الراقية وجد أنها تتكون من DNA اذن فظاهرة التحول الوراثى genetic transformation والتى أمكن اكتشافها فى البكتيريات قد يكون لها أهمية بيولوجية كبيرة ، حيث يمكن عن طريقها التعرف على القدرة التخصصية specificity وطريقة عمل المصمات الوراثية genetic determinants أى «الجينات» .

### ظاهرة التحول المعروفة باسم Transformation :

سبق بيان أن ظاهرة التحول تسمح لبعض السلالات البكتيرية أن تنمو فى وجود الخلايا التى أميتت حرارياً heat-Killed أو الراشحات المزرعية cultural filtrates أو المستخلصات الخلوية cell-free extracts من سلالة أخرى من نفس النوع البكتيرى . فتكتسب السلالة الأولى النامية تحت هذه الظروف بعض الصفات المعينة التى كانت تميز السلالة الثانية وتورثها إلى أجيالها المتعاقبة . والصفات الجديدة التى تكتسبها السلالة النامية هى عبارة عن تغيرات وراثية ثابتة تنتج عن اكتسابها لوحدات وراثية نشطة تصل إليها

عن طريق البيئة النامية عليها وليس عن طريق الالتحام الخلوى أو التزاوج الجنسي . كما أن هذه الوحدات الوراثية النشطة القدرة على أحداث تغييرات وراثية ثابتة للخلايا التى تكتسبها .

ومثل هذه الوحدات الوراثية النشطة يمكن مشاهدة تأثيرها فى الأجيال المتعاقبة للخلايا المخولة والتى تنمو فيما بعد فى غياب عامل التحويل transformation factor ويمكن الحصول على عامل التحويل بكميات تكفى لإحداث تحويلات فى سلالات أخرى عند استخلاص الخلايا المخولة أو ناتج انقسامها .

وقد تم التعرف على ظاهرة التحول هذه ، فى أنواع بكتيرية محدودة وحيث أنه يتحتم توفر بعض الظروف البيئية المعينة لحدوث هذه الظاهرة فيمكن القول أن عدم القدرة على مشاهدتها فى الأنواع البكتيرية الأخرى يرجع غالبا لعدم التعرف على الطرق والظروف المناسبة لحدوث هذه الظاهرة فى تلك الأنواع البكتيرية .

تحول الطرز الغلافية المختلفة من البكتيريا Pneumococci :

لاحظ Griffith (١٩٢٨) ظاهرة التحول لأول مرة فى بعض السلالات التابعة للبكتيريا Pneumococci كما أن معظم الدراسات التى تمت على هذه الظاهرة فيما بعد أجريت على سلالات هذا النوع .

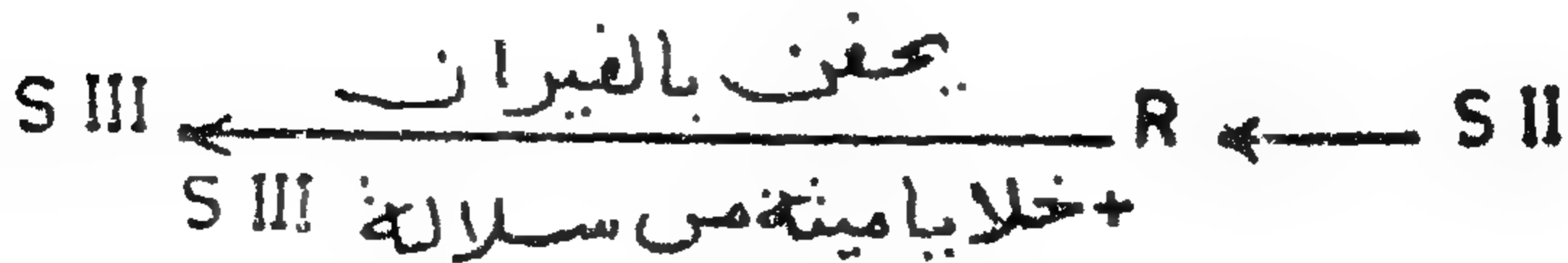
وكما سبق أن ذكرنا فى الباب الثانى من هذا الكتاب أن سلالات هذا النوع تتميز بوجود طرز ممرضة ناعمة Virulent smooth (S) types تمتلك غلافا يتركب غالبا من عديدات السكر — . كما أن الصفات السيولوجية والتركيب الانتيجنى antigenic structure للطرز المختلفة تتميز تبعا لاختلاف التركيب الكيماوى لطبقة الغلاف المحتوية عليها . وقد أمكن التعرف على ما يقرب من مائة سلالة سيولوجية مختلفة من السلالات الناعمة لهذه البكتيريا . ومن المعروف أن صفة التخصص السيولوجى

serological specific type هذه صفة وراثية تحتفظ بها خلايا الطراز أثناء تكرار النمو والانقسام ويورثها إلى أجياله المتعاقبة :

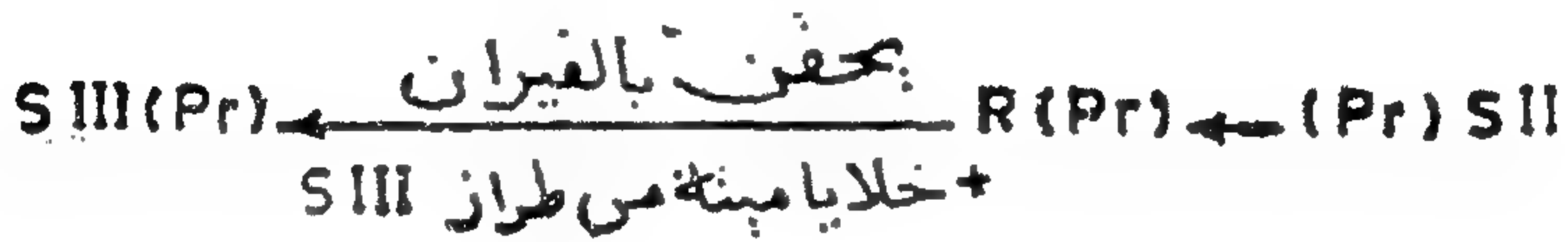
وجدير بالذكر أنه لم يمكن مشاهدة حدوث الطفرات التلقائية في الطرز الناعمة من هذه البكتيريا إلى أى طراز غلافي آخر : ولكن يمكن للسلاسل الناعمة أن تتطفر تلقائيا مكونة سلاسل خشنة (R) : ومن المعروف أن الطرز الخشنة عديمة الغلاف وتفتقر كما سبق أن بينا من قبل إلى التخصص السيرولوجي تجاه السلاسل الناعمة التي تكون قد نشأت منها : والطرز الخشنة المتكونة هذه لا يمكنها الرجوع إلى أصلها نتيجة للارتداد في الطفرات التلقائية بمعنى أنها لا تتطفر إلى طرز ناعمة ذات أغلفة :

وفي عام ١٩٢٨ تمكن Griffith وهو على علم تام بالحقائق السابقة من أن يحول خلايا سلالة خشنة غير مغلفة إلى سلالة ناعمة ومغلقة وذلك بتنمية السلالة غير المغلفة في أنبوبة اختبار في وجود خلايا أميتت حراريا haet-killed من سلالة ناعمة ذات غلاف .

وعلاوة على ذلك قام بحقن عدد قليل من الخلايا الحية من طراز خشن غير مغلف بجسم عدة فئران تجارب مع كمية كبيرة من خلايا (ميتة) من طراز ناعم يختلف سيرولوجيا عن السلالة الناعمة الأصلية التي اشتقت منها السلالة الخشنة المحقونة : فلاحظ موت عدد كبير من الفئران المحقونة بهذه الطريقة وأمكنه أن يعزل منها خلايا حية مغلفة ناعمة (S) من البكتيريا Pneumococci ذات قدرة ممرضة عالية لها نفس الصفات السيرولوجية لخلايا البكتيريا الناعمة (S) الميتة والتي حقنت في أجسام هذه الفئران . وتبين المعادلة التالية ما يمكن أن يحدث :



وقد حاول عدد من الباحثين إعادة تجربة جريفت حيث ثبت أن من المستحيل أن تكون السلالة SIII المعزولة من الفئران المريضة أو الميتة عبارة عن تلوث للقاح المحقون بخلايا حية من هذا الطراز . كما أن احتمال حدوث التلوث قد استبعد كثيرا عندما حقنت خلايا السلالة الحشنة (R) المعروفة بمقاومتها لبعض المواد الكيماوية السامة (مقاومة للبنسلين Pr) وهى صفة ليس لها علاقة بالغلاف وأمكن متابعة هذه الصفة فى السلالة الناعمة المعزولة كما يلي :



وقد تمكن داوسون وسيا Dawson & Sia (١٩٣١) من الحصول على تحويلات مشابهة بتنمية سلالة خشنة (R) فى بيون يغوى على سيرم مضاد لنفس السلالة anti R - serum مضافا إليها بعض الخلايا الميتة من طراز ناعم (S) . وأعقب ذلك أن تمكن اللوواى Alloway (١٩٣٣) من الحصول على تحول مشابه عند تنمية خلايا السلالة الحشنة (R) فى بيئة مناسبة محتوية على مستخلصات من الخلايا الميتة الناعمة (S) . كل هذه المحاولات فتحت الطريق أمام أبحاث افيرى وزملائه (١٩٤٤) للتمكن من عزل المادة الفعالة فى عملية التحول transforming principle (TP) (TP) والتعرف عليها بأنها حمض ديزوكسى ريبونيوكلريك (DNA) . وقد تبين أن المستخلصات غير النقية من الخلايا الناعمة من طراز SIII والتى أميتت حراريا تحتوى على كثير من المواد غير الفعالة فى أحداث التحول مثل البروتينات ، والدهون ، و RNA ، وعديدات السكر . وعندما أزيلت هذه المواد غير الفعالة بمعاملة المستخلص بالكلوروفورم أو بإجراء التحللات الانزيمية ثم معاملتها بالكحول بقيت بعض المواد وكان لها قوة المستخلص على أحداث التحول. وقد تمكن McCarty & Avery (١٩٤٦) من التأكد من أن العامل النشط فى أحداث التحول (TP) هو DNA وذلك بإجراء التحليلات الكيماوية وإجراء منحنيات امتصاص الأشعة فوق

البنفسجية لحمض الديزوكسى ريبونوكليك DNA النقى وبمقارنتها بالعامل النشط فى احداث التحول . وقد قام Hotchkiss (١٩٤٨) بتأييد هذه النتائج عندما وجد أن استعمال DNA النقى بنسبة ١/٦٠٠ مليون فى بيئة مناسبة يمكنه أن يحدث تحولا للخلايا الحشنة إلى خلايا ناعمة .

ولا تظل الخلايا المحولة محتفظة بصفاتها الجديدة فقط بل أنه يمكن عزل DNA (TP) من الخلايا الناتجة عن نموها وانقسامها بكميات أكبر بكثير مما يكفى لإحداث تحولات فى سلالات غير مغلفة أخرى . وهذا يبين أن (TP) أو DNA الذى استعمل يمكنه أن يكرر نفسه reduplicates داخل الخلايا المحولة أو أنه يشجع تكوين DNA مشابه له داخل هذه الخلايا . وقد لوحظ تخصص DNA فى احداث التحول بمعنى أن DNA الذى يعزل من الطراز II يمكنه أن يحول الخلايا R إلى خلايا ناعمة من الطراز II وكذلك DNA المعزول من الطراز VI يحول الخلايا الحشنة إلى أخرى ناعمة من الطراز VI وهكذا كما يلي :



وبالرغم من أن هذه النتائج قد تظهر مدى تخصص الـ DNA ، فى التأثير على التركيب الوراثى الخاص بخلايا الطرز لتكوين عديدات تسكر معينة إلا أن كمية DNA التى تؤدى هذه الوظيفة تمثل نسبة بسيطة من الـ DNA الكلى للخلايا . هذا و DNA الممكن استخلاصه من الخلايا الحشنة غير المغلفة (R) من البكتيريا pneumococci (بنفس الطرق التى يعزل بها فى الخلايا الناعمة) يكون غير فعال فى احداث التحول كلية . وقد أمكن توضيح درجة تعقد DNA المستخلص من الخلايا الناعمة من ناحية مدى احتوائها على عدد من العوامل التحويلية Transforming principles (TP's) ، عن طريق الحقيقة المعروفة عن أن التحول إلى صفات أخرى غير صفة التغليف مثل



المقاومة للمواد السامة وغيرها من الصفات يمكن الحصول عليها باستعمال DNA معزول من سلالات pneumococci ذات أغلفة متشابهة من الناحية التخصصية كما سنوضح فيما بعد ، وغير معروف إلى الآن ما إذا كان إنعكاس التخصص البيولوجي لـ DNA يرجع إلى اختلافاته من الناحية الكيميائية ، إلا أن هناك بعض الأدلة تنص على أن DNA المعزول من مصادر مختلفة يحتوى على نسب مختلفة من الأسس البيورينية والبريميدينية :

التحولات المتضمنة طرزا غلافية متوسطة :

علاوة على التحولات المتضمنة للتحويل في تخصص الطرز الناعمة S أمكن لكل من Macleod (١٩٤٧) و Taylor (١٩٤٩) إظهار تفاعلات تحويلية في طفرات من البكتيريا pneumococci المتوسطة في إنتاجها لطبقة الغلاف وهذه الطفرات تختلف فقط عن الطرز الكاملة التغليف في كمية المواد عديدة السكر التي تفرز على سطح خلاياها ، فهينا يوجد طراز تطفري وسطي intermediate type (1 - III) يفرز كمية قليلة جدا من مادة الغلاف المميزة لعديدات السكر للطراز III نجد طرازا متوسطا آخر (S-III-2) يفرز كمية أكبر من مادة الغلاف على سطح خلاياها وكذلك نجد الطراز الأصلي (S-III-N) للعادي كامل التغليف ، وقد وجد أن DNA الذى يمكن عزله من أى من الطرز الثلاثة المذكورة يمكنه أن يحول الخلايا الحشنة (R) إلى الحالة التى تميز الطراز الذى استعملت مادته التحويلية .

$S_{III-1} \leftarrow (DNA \text{ معزول من } S_{III-1}) + R$

$S_{III-2} \leftarrow (DNA \text{ معزول من } S_{III-2}) + R$

$S_{III-N} \leftarrow (DNA \text{ معزول من } S_{III-N}) + R$

وعلاوة على ما تقدم فإن خلايا R التى تتكون عن طريق الطفرات التلقائية من كل من الطراز العادي أو الطرز الوسيطة intermediates يمكنها أن

تتحول إلى خلايا ناعمة من الطراز العادى إذا استعمل لذلك DNA مستخلصاً من خلايا عادية :



ومن النتائج السابقة يمكننا أن نستنتج ما يلى : ( أ ) الطفرات التى تؤثر فى كمية عديدات التسكر المتكونة تؤثر أيضا على عامل التحول (TP) الممكن استخلاصه من خلايا هذه الطفرات ؛ (ب) أن كل طراز يحتوى فقط على عامل تحول TP معين ، والذي يتغير أثناء عمليات التطفر الخاصة بكمية عديدات التسكر المفروزة ؛ وقد أمكن تأييد الاستنتاج الأخير بتعريض خلايا خشنة R إلى خليط من DNA معزول من كل من SIII-N ، SIII-I وكانت الخلايا ( S ) الناتجة عبارة عن خليط من SIII-N ، SIII-1 :

التحولات الوراثية المتضمنة صفات أخرى غير صفة التغليف :

علاوة على التحولات الوراثية التى تحدث فى صفة تخصص عديدات التسكر المكونة لأغلفة البكتيريا pneumococci أمكن اظهار هذه الظاهرة أيضا فى صفات أخرى لهذه البكتيريا ؛ فقد بين Austrain & McLeod (١٩٤٩) ؛ أن البروتينات الجسمية (M-protein) somatic protein التى تحتوىها الخلايا لا تتغير عند تحول الخلايا من صفة النعومة إلى الخشونة  $\text{S} \leftarrow \text{R}$  :



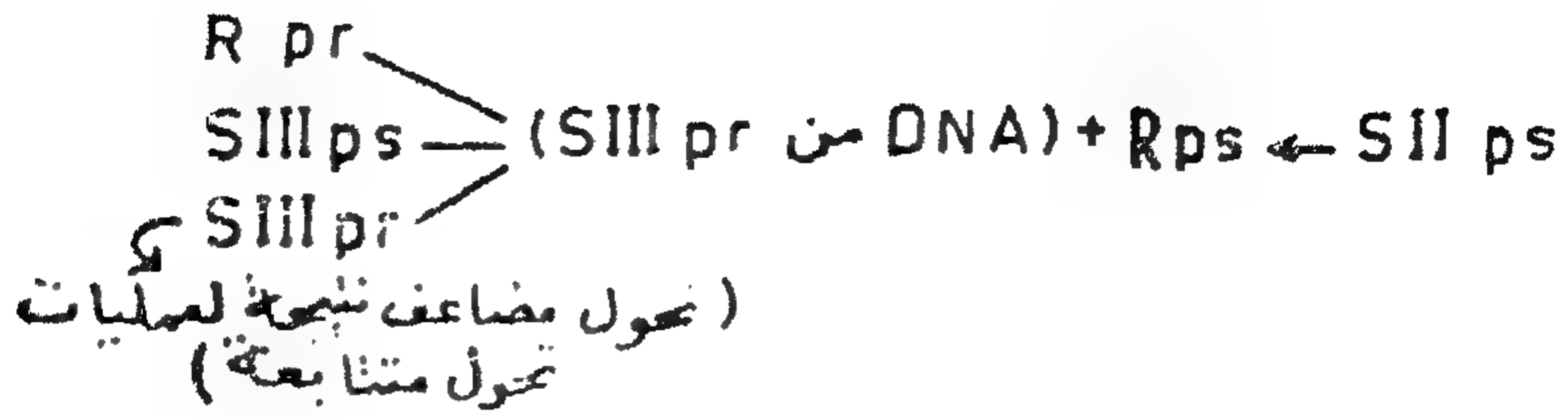
من ذلك نرى ان طرق انتاج عديدات التسكر وكذلك طرق تكون البروتين الجسمى (M) بهذه الخلايا تكون مستقلة ومختلفة عن بعضها. ويؤيد ذلك تواجد السلالات ذات النوع الواحد من مواد الغلاف والمختلفة البروتين الجسمى طبيعيا ؛ ويمكن احداث تغيرات فى البروتين الجسمى (M-protein) لسلالة طفرية خشنة بتعريضها إلى سیرم مضاد للبروتين الجسمى anti-M (protein serum) والخلايا الجديدة المتحصل عليها تعرف بالرمز (Rm) :

وعند تعريض هذه الخلايا (Rm) إلى DNA من خلايا ناعمة مختلفة في نوع بروتينها الجسمي يمكن عزل سلالتين من الخلايا الناعمة احدهما تحتوي على البروتين الجسمي للخلايا الحشنة (Rm) (parent) وذات غلاف مكون من عديدات تسكر السلالة المعطية . والسلالة الثانية كانت ذات بروتين جسمي (RM) وعديدات تسكر تشبه السلالة المعطية لعامل التحول والمثال التالي يوضح ما تقدم .



والسلالة SIII M<sub>2</sub> تمثل ناتج عملية تحويل مضاعفة double transformation حيث أنها تظهر تحولا لكل من البروتين الجسمي M ، وعديدات التسكر المكونة للغلاف . ولازال غير معروف أن هذه التحولات المضاعفة تحدث في وقت واحد بداخل الخلية أو أنها ناتج لعمليات تحول متتابعة واحدة تلو الأخرى . وعموما فمثل هذه التحولات المضاعفة التي تتم عن طريق مستخلصات الخلايا الناعمة قد تبين أن DNA المتحصل عليه من كل خلية يحتوي على مجموعة من العوامل التحويلية المتخصصة .

وبالمثل يمكن الحصول على تحولات مضاعفة في تحولات البكتيريا pneumococci والتي تتضمن نقل صفة المقاومة للبنسلين إلى خلايا حساسة له في وجود DNA معزول من خلايا مقاومة . وعند تعريض خلايا خشنة (R) وحساسة للبنسلين (ps) إلى DNA معزول من الخلايا الناعمة (S) مقاومة له (pr) ، يمكن عزل سلالات خشنة (R) مقاومة لتأثير البنسلين علاوة على خلايا ناعمة (S) حساسة للبنسلين وذات غلاف يحتوي على عديدات تسكر مشابهة لتلك الموجودة في أغلفة الخلايا المعطية لعامل التحول أي التي استخلص منها DNA المستعمل . كما يمكن أيضا عزل عدد قليل من خلايا ناعمة ومقاومة للبنسلين وذات غلاف مشابه للطراز المعطى لعامل التحول donor :



والحصول على خلايا مقاومة للبنسلين في هذا التفاعل كان أكبر بما يقرب من ١٠,٠٠٠ مرة ، من الممكن التحصل عليها عن طريق التطفر التلقائي أى في غياب DNA المعزول من الخلايا المقاومة . ومن الصفات الهامة التي تميز هذا النوع من التحول الوراثي انعكاس الحقيقة المعروفة عند حدوث الزيادة المتدرجة في مقاومة الخلايا للبنسلين . لذلك فإن DNA الذي يعزل من الخلايا المقاومة (pr) للبنسلين على تركيز يصل إلى ما يقرب من ٣٠ مرة قدر ذلك المؤثر على الخلايا الحساسة له ، يسفر عن خلايا محولة تقاوم تركيزا من البنسلين يوازي فقط خمسة أضعاف ذلك التركيز المؤثر على الخلايا الحساسة . وتعرض الخلايا الأخيرة إلى نفس DNA مرة ثانية ينتج عنه خلايا أكثر مقاومة بما يقرب ١٢ مرة عنها في الخلايا الحساسة وهكذا . من ذلك يمكننا أن نرى مرة ثانية التلازم بين تأثيرات عوامل التحول (TP's) وبين التأثيرات المعروفة لمجموعة الجينات .

#### ميكانيكية التحول : mechanism of transformation

قد أمكن الحصول على عمليات تحول وراثية لبعض صفات البكتيريا *Shigella paradysenteriae* ، *Haemophilus influenzae* ، *E. coli* كما أن هناك ثلاثة أنواع أخرى أمكن ملاحظة حدوث هذه الظاهرة بها بطرق أقل تعقيدا .

درست طبيعة التحول الوراثي في البكتيريا ووجد أن الطريقة تشتمل على خروج الـ DNA من الخلية المعطية أو الواهبة عن طريق تحليل الخلية مثلا وخلال ذلك يحدث تكسير لجزء الـ DNA الدائري إلى حوالى ١٠٠ - ٢٠٠ قطعة وكل قطعة تتكون من عدد من الجينات (حوالى ١٠ - ٢٠ جين) . ومن

الملاحظ المثيرة للدهشة في عملية التحول هذه هو كيفية مرور جزء كبير من الـ DNA خلال الجدار الخلوى والغشاء السيتوبلازمى للخلية المستقبلية : ويبدو أن هناك أماكن إستقبال معينة على سطح الخلية والتي تميز وتستقبل أجزاء من الـ DNA في صورة أجزاء من شريط مزدوج : ويلاحظ أن الشرائط الفردية من DNA تستطيع الدخول إلى الخلية المستقبلية ولكن ليس بالسهولة التي تدخل بها الشرائط المزدوجة :

وظهر أن الخلايا المستقبلية تستقبل الـ DNA عند فترة معينة من دورة إنقسام الخلية وتسمى فترة الإستقبال receptive period (أو تسمى period of competence) وهي في حالة البكتيريا *S. pneumoniae* تكون مباشرة قبل الإنقسام الخلوى ، وفي حالة الجنس *Bacillus* تكون معظم الخلايا قادرة على الإستقبال في الفترة الأخيرة من الطور اللوغاريتمى :

وحديثا وجد عامل Competence factor عزل من *S. pneumoniae* من البروتين ويجعل الخلايا قادرة على الإستقبال ويفترض إنه يغير من تركيب السطح الخلوى بطريقة ما. وإقترح أيضا أن هناك إنزيمات بربلازمية periplasmic enzymes التي تدخل في نمو الجدار الخلوى وفي إنقسام الخلية قد تلعب دوراً في جعل الخلية المستقبلية قادرة على الإستقبال : ويلاحظ أن القدرة على الإستقبال تتأثر بنوع البيئة ووجود مواد كيميائية معينة :

بعد دخول أجزاء الشرائط المزدوجة من الـ DNA الخلية المستقبلية فإنه مباشرة توجد فترة كسوف eclips period لا يمكن خلالها الحصول على الـ DNA الداخلة إلى الخلية وهذه الفترة تستغرق حوالى ٥ دقائق ، وأجريت دراسات بإستعمال DNA معلم ظهر في خلال هذا الوقت فإن الـ DNA تكون في حالة شرائط فردية . ثم يتبع ذلك إدخال الـ DNA إلى الهيئة الكروموسومية للخلية المستقبلية وبعد ذلك يمكن أن تعود حالة الشريط المزدوج إلى الـ DNA : ويفترض أن يحدث إستئصال لجزء من الـ DNA للخلية المستقبلية ، ودخول



جزء مماثل من شريط مفرد من الـ DNA الخاص بالخلية الواهبة في منطقة مماثلة على الهيئة الكروموسومية للخلية المستقبلة :

وعلى ذلك فإن التحول الوراثي في البكتيريا يشتمل على إعادة تشكيل وراثي recombination والذي يحل فيه جزء من الهيئة الوراثية للخلية الواهبة لجزء مماثل من الـ DNA للخلية المستقبلة وليس عن طريق إضافة الـ DNA إلى الهيئة الوراثية للخلية المستقبلة حيث أنه لم تشاهد حالة ثنائية الأساس الكروموسومي diploidy في الخلايا المتحولة :

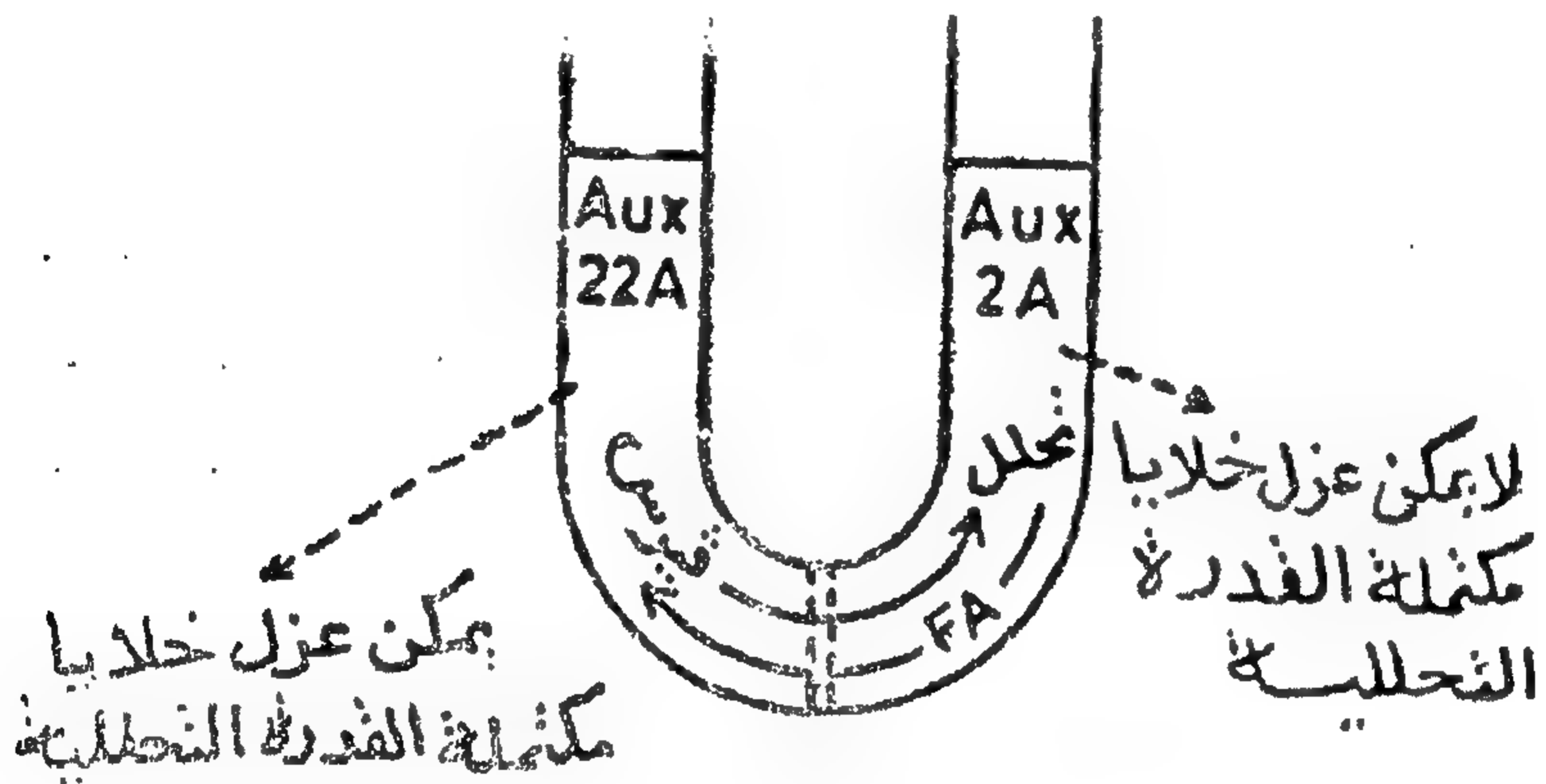
ويلاحظ أن التحول الوراثي يمدنا بوسيلة مفيدة لدراسة تأثير عدد من المعاملات الفيزيائية والكيمائية على الوظائف الحيوية للـ DNA : فيمكن عزل وتنقية DNA من خلايا مستقبلة ثم بعد ذلك تحديد ما إذا كانت المعاملة بمادة كيمائية معينة يكون لها تأثير على قابلية الـ DNA لتغيير الخلية المستقبلة : وقد استعمل Lederberg هذه الطريقة لإظهار أن مركبات الكلور التي نستعمل في حمامات السباحة تستطيع إتلاف الـ DNA . كما أن عوامل التطفر مثل حمض النيتروز Nitrous acid تحطم بسرعة قابلية الـ DNA لإحداث تحول وراثي :

ظاهرة التحول المعروفة باسم : Transduction

هي ظاهرة تشابه كثيرا ظاهرة التحول Transasformation سابقة الذكر أمكن مشاهدتها في الدراسات التي تمت على أنواع جنس *Salmonella* ، وهذه الظاهرة تتضمن انتقال المصمات الوراثية hereditary determinants من سلالة إلى أخرى عن طريق عامل قابل للترشيح filterable agent والذي يكون ملازما لجزيئات مرئية ذات حجم يقدر بما يقرب من ١٠١ ميكرون : وقد اكتشف Zinder (١٩٥٢) هذه الظاهرة عندما صمم تجربة لإختبار حدوث التهجين أو التكاثر الجنسي بين سلالات البكتيريا *Salmonella typhimurium* ، فقد قام بإجراء تهجينات مختلفة بين عشرين سلالة طفرية غير مكتملة القدرة التخليقية auxotrophes محاولا عزل سلالات prototrophes من ناتج هذه

التهجينات . وفي تسع تهجينات فقط أمكنه عزل سلالات مكتملة القدرة التخليقية prototrophes بأعداد كبيرة ، بمعدل يزيد عن المعروف حدوثه عن طريق التهجين .

وعندما زرع السلالات المتزاوجة منفصلة عن بعضها كلا في ذراع أنبوبة ذات شكل حرف U (شكل ٩٧) ، فصل ذراعيها عن بعضها بواسطة حاجز زجاجي ذي ثقب غاية في الدقة ultra-fine fritted glass filter .



شكل ٩٧ : شكل تخطيطي يبين حدوث ظاهرة transduction في البكتيريا *Salmonella typhimurium* بين سلالتى ١٢٢ ، ١٢ ، باستعمال أنبوبة ذات شكل حرف U (U).

فقد زرع في أحد ذراعى الأنبوبة سلالة (2A) تحتاج إلى اضافة الهستدين وفي الذراع الآخر زرع سلالة (22A) تحتاج إلى اضافة التريبتوفان . وعندما أضاف لقاحا من كل من السلالتين مقداره ١٠<sup>٨</sup> خلية في كل ذراع أمكن عزل ١٠ خلايا prototrophes لكل مليون خلية وذلك من الذراع الذى يتواجد به السلالة (22A) ولم يمكن عزل مثل هذه الخلايا من الذراع الآخر المحتوى على السلالة (2A) .

وقد وجد أن السلالة (22A) تحمل فيروس بكتيرى bacteriophage له قدرة تحليلية ضعيفة للسلالة (2A) . وتحت تأثير هذا الفيروس البكتيرى الذى

يمكن لجزيئاته المرور خلال المرشح الزجاجي ذى الثقوب الدقيقة جدا فان عاملا قابلا للترشيح Filterable agent (FA) يمكنه أن ينطلق من الخلايا (2A) التى تحللت من تأثير اصابته بالفيرس البكتيرى . بمعنى أن (FA) المنطلق من خلايا السلالة (2A) يمكنه أن يمر عكسيا خلال الحاجز الزجاجي ليصل إلى خلايا السلالة (22A) ويكسبها صفات جديدة تشبه خلايا السلالة التى أطلقته وفي الحالة المبينة في ( شكل ٩٧ ) فإن الصفة التى تنتقل هى القدرة على النمو في غياب الترتوفان وقد أمكن ملاحظة انتقال بعض الصفات الأخرى بهذه الطريقة مثل القدرة على تخمير الكربوايدرات ، أو مقاومة المضادات الحيوية ، أو الصفات السيرولوجية ٥

ومن الصفات المميزة لهذه الظاهرة الحقيقة المعروفة أن الخلايا الفردية تكتسب نتيجة لها صفة وراثية واحدة فقط من السلالة المعطية لعامل التحول القابل للترشيح (FA) ، بمعنى أنه لو اختلفت السلالة المعطية للعامل القابل للترشيح عن السلالة الأخرى في صفتين وراثيتين ولتكن A ، B ، فإن خلايا مكتسبة لصفة A أو صفة B يمكن عزلها علاوة على الخلايا الأخرى غير المحولة ولكن لا يمكن عزل خلايا متحولة في كلا الصفتين A ، B ، في نفس الوقت. والانتقال الفردي للصفات الوراثية من خلايا سلالة إلى خلايا السلالة الأخرى هو من الاختلافات الأساسية المميزة لهذه الظاهرة عن ظاهرة إعادة التشكيل الوراثي والعبور التي تحدث في البكتيريا *E. coli* كما أن سبق بينا ، حيث أن في ظاهرة العبور يحدث ارتباط بين صفات وراثية عديدة تنتقل جميعا إلى خلايا السلالات الناتجة من عمليات التهجين .

وقد سبق ذكر أن العامل القابل للترشيح (FA) والذي ينطلق من خلايا بعض سلالات *Salmonella* تحت تأثير اصابته بالفيرس البكتيرى يكون ملازما لجزيئات ذات حجم يصل إلى ٠,١ ميكرون تقريبا والتي يمكن مشاهدتها بالمجهر الالكترونى .

وقد وجد أن (FA) يكون مقاوما للظروف التي يعتقد أنها تبديد الخلايا البكتيرية الحية بمعنى أنه يكون مقاوما لعمليات التسخين لدرجة ٥٦°م لفترة ٣٠ دقيقة كما أنه يكون مقاوما لعمليات الترسيب الكحولي أو الرج مع الكلوروفورم أو البنزين. كما أنه يختلف عن عامل التحول Transforming principle (TP) الذي تفرزه خلايا pneumococci أو أنواع Hemophilus في أن (FA) يكون مقاوما لفعل انزيم desoxyribonuclease وهذا لا يعنى أن (FA) يكون خاليا من DNA ، حيث يمكن القول أن DNA المحتوى عليه لا يكون عاريا كما هو في حالة (TP) بل يكون محميا بمواد أخرى تحيط به من جميع الجهات :

وقد أمكن الحصول على العامل القابل للترشيح (FA) من الخلايا المعطية له بطرق أخرى غير تعريضها إلى تأثير الفيروس البكتيري مثل تعريض الخلايا إلى كلوريد الليثيوم ، أو الكريستال البنفسجي أو إلى تركيزات منخفضة من البنسلين أو بمجرد ترك الخلايا لفترة طويلة في بيئاتها السائلة ؟ (aging in broth) إلا أنه لم يمكن الحصول على هذا العامل (FA) من الخلايا المعطية له مثل السلالة 2A ، بقتلها حراريا أو بتحليلها ذاتيا أو بتهيئة الظروف التي يكون (FA) مقاوما لها : كما أن الراشح المخضر مباشرة من مزارع مثل هذه السلالات بدون تعريضها إلى السلالة الأخرى المستقبلية مثل (22A) في المثال الموضح (بشكل ٩٧) لا يسفر عنه (FA) نشط في عملية التحويل الوراثي :

وظاهرة Transduction درست فقط في سلالات Salmonella المنتمية للأنواع ذات التركيب السيرولوجي الجسمي (Somatic O antigens) المتشابهة وبخاصة الطرز السيرولوجية ذات التركيب الانتجيني الجسمي (XII) : من ذلك نرى أن هذه الظاهرة تحدث فقط بين سلالات البكتيريا Salmonella typhimurium وكذلك البكتيريا S. typhosa المتشابهة في التركيب الانتجيني الجسمي والمختلفة في التركيب الانتجيني السوطي (H antigen) : وهذا قد ينتج عنه ما يمكن

اعتباره أول تهجين بين الأنواع interspecific hybridization حيث أن الخلايا الناتجة يكون لها التركيب السيولوجي الجسمي للنوع *S. typhosa* ، والتركيب السيولوجي السوطي للبكتيريا *S. typhimurium* : وأن مثل هذا الطراز لم يشاهد حدوثه بالطبيعة إلى الآن :

والجزيئات القابلة للترشيح والتي تتلازم مع (FA) كان يعتقد تشابهها بالتركيبات البكتيرية المعروفة باسم L. forms إلا أن الدراسات الحديثة والتي قام بها Zinder (١٩٥٢) قد بينت أن هذه الجزيئات عبارة عن جزيئات فيرس بكتيري : وأن جزيئات الفيرس البكتيري هذه تعتبر بمثابة حوامل carrier للمواد التحويلية transducing material . وحيث أن جزيء الفيرس البكتيري يمكنه أن ينقل عادة صفة وراثية واحدة للخلية التي يصيبها فقد اقترح أن الجزيء الفردي من جزيئات الفيروسات البكتيرية يعمل كحامل لجين واحد أو أكثر أو لجزء بسيط من كروموسوم الخلايا المعطية لعامل التحول ويقال أن الكروموسوم البكتيري يتجزأ إلى ما يقرب من ١٠٠ جزء أحد هذه الأجزاء يدخل بطريق الصدفة إلى أحد رؤوس جزيئات الفيرس البكتيري : وعندما يتحرر الفيروس من الخلية المصابة فقد يصيب خلية أخرى مستقبلية وبذلك تنقل الجينات البكتيرية من سلالة إلى أخرى ويحدث اندماج DNA الجديد مع DNA الخلية المستقبلية : كما يجب أن نعلم أيضا أن التركيب الوراثي للخلية القابلة للتحويل transducible قد يكون له دورا في التحكم في أي من العوامل الوراثية التي يمكن إدماجها في تركيبها الوراثي :

أهمية ظاهرتي التحول الوراثي في الدراسات البكتيولوجية المختلفة :

لقد كان ولا يزال لظاهرتي التحول سواء transformation أو transduction لها دور هام في تطور البكتيريا عموما تماما كالدور الذي تلعبه ظاهرة إعادة التشكيل الوراثي recombination في هذا الصدد حيث أنه من المعروف كونها من المصادر الهامة في نشوء أفراد ذوي توليفات وراثية



جديدة . ولهاتين الظاهرتين أهمية قصوى فى البكتريولوجيا الطبية وبخاصة فى دراسة الأمراض الوبائية من حيث نشوء وتأقلم الأوبئة البكتيرية . فعن طريق احدى هاتين الظاهرتين أو كليهما قد تتكون سلالات جديدة ذات صفات سيرولوجية وممرضة مميزة إذا ما احتوى جسم المريض على سلالتين مختلفتين فى هذه الصفات وتوفرت فى جسمه كل الظروف المشجعة لحدوث أى منها .

هذا ولم يمكن إلى الآن مشاهدة أى تحول وراثى مشابه بين خلايا الكائنات الأرقى من البكتيريا دون ضرورة تلامسها الفعلى ، إذا ما استثنينا حالات تكون الأورام الخبيثة التى تنشأ عن إصابات فيروسية . من ذلك نرى أن التفاعلات التحولية هذه لا تعتبر ذات أهمية كبيرة من ناحية دراسة الوراثة بالبكتيريا فقط بل أنها ذات أهمية بيولوجية تطبيقية عامة فى شتى الميادين البكتريولوجية .

## المراجع

- Alloway, J.L. 1932. J. Exp. Med. 55 : 91.
- Alloway, J.L. 1933. J. Exp. Med. 57 : 256.
- Austrian, R., and C.M. MacLeod. 1949. J. Exp. Med. 89 : 451.
- Boivin, A. 1947. Cold Spring Harbor, Symp. Quant. Biol., 12 : 7.
- Burrows, W. 1973. Textbook of Microbiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1035p.
- Dawson, M.H. and R.H.P.S. 1931. J. Exp. Med. 54 : 681.
- Ephrussi-Taylor, H. 1951. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 16 : 445.
- Ephrussi-Taylor, H. 1951. Exp. Cell Research, 2 : 589.
- Griffith, F.J. 1928. J. Hyg. 27 : 113.
- Hotchkiss, R.D. 1948. Colloques sur « Les unités biologiques données de continuité génétique » Centre Nat. Rech. Sci., Paris, 8 : 57.
- Hotchkiss, R.D. 1951. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 16 : 457.
- MacLeod, C.M., and M.R., Kraus. 1947. J. Exp. Med. 86 : 439.
- McCarty, M., and O.T. Avery. 1946. J. Exp. Med. 83 : 89; 83 : 97.
- McCarty, M.H., E. Taylor and O.T. Avery. 1946. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 11 : 177.
- Nester, E.W., C.E. Roberts, N.N. Pearsall and B.J. McCarty. 1978. Microbiology. Holt, Rinehart and Winston N.Y.



## الباب الخامس

### التفاعلات الأيضية البكتيرية

#### Bacterial Metabolism

إن الخلية البكتيرية الصغيرة الحجم والتي يصعب رؤيتها حتى بعد تكبيرها آلاف المرات لعلى درجة كبيرة من النشاط. فهي تنمو وتتكاثر محدثة تغييرات كيميائية ملموسة في البيئات التي تعيش فيها. كما أنها تورث هذا النشاط إلى أجيالها المتعاقبة. وفي الحقيقة تعتبر القدرة على إحداث تغييرات كيميائية سريعة في بيئة النمو من أهم الصفات التي تفرق بين الكائنات الحية والأخرى غير الحية. فالبكتيريا تعيش ملازمة للعديد من المواد التي تتواجد ببيئاتها لا تهتم ببعضها في حين أنها ترحب ببعض الآخر حيث تأخذه داخل خلاياها وتحوله إلى مواد كيميائية أخرى. وبعض من هذه المواد يتحلل إلى مكونات بسيطة، كما أن بعضا آخر منها يستعمل مباشرة في تخليق وحدات بروتوبلازمية أعقد تركيبا. هذا والخلية البكتيرية يمكنها أن تلتقط المواد التي تستغنى عنها والتي ليس لها فائدة للخلية خارج حدودها الخلوية.

وهذه القدرة الكبيرة والنشاط الملحوظ في عمليات البناء وكذلك القدرة الكبيرة لخلايا البكتيريا على القيام بهدم المواد الكيميائية تعرف جميعا بالتفاعلات الأيضية metabolism وكلمة metabolism تعني التفاعلات التي تتضمن انتقال مجاميع من الذرات أو ذرات فردية أو الكتلونات، من تجمعاتها في مركبات معينة، إلى تجمعات جديدة تظهر في صورة مركبات أخرى. وهذه التفاعلات الأيضية يمكن تقسيمها إلى نوعين: (١) عمليات الهدم dissimilation or catabolism، والتي تتضمن تحليل مواد التفاعل المعقدة، (٢) عمليات البناء assimilation or anabolism والتي تتضمن بناء وتخليق المكونات الخلوية. من ذلك نرى أنه عن طريق العمليات الأيضية عموما يقل تعقيد جزيئات بعض المواد، كما أن جزيئات أكثر تعقيدا قد تتكون لاصلاح

المكونات الخلوية للخلايا الكبيرة أو لانتاج خلايا جديدة أثناء عمليات الانقسام الخلوى .

والتفاعلات الأيضية بالبكتيريات لاتقل تعقيدا عن تلك الخاصة بالخلايا النباتية الراقية . الا أن الانزيمات المسئولة عن هذه التفاعلات وخطوطها العريضة وأسسها العامة والغرض الأساسى من حدوثها بالنسبة للخلية ، قد تختلف قليلا فى تفاصيلها عما يلاحظ فى خلايا الكائنات النباتية والحيوانية الراقية

وسوف نخصص فصول هذا الباب لمناقشة الانزيمات البكتيرية والطرق العامة فى التحولات الأيضية للمركبات المختلفة وكيفية حدوثها وأهميتها الفسيولوجية لخلايا البكتيريا .



## الفصل الأول

### الأنزيمات البكتيرية

#### Bacterial Enzymes

إن النشاط الكيماوى للخلايا البكتيرية وللخلايا الحية الأخرى يرجع كلية إلى وجود الانزيمات والتي هي عبارة عن مواد عضوية تنتجها الخلايا الحية تعمل كعوامل مساعدة catalysts في التفاعلات البيوكيماوية المختلفة ولا تختلف الانزيمات عن العوامل الكيماوية المساعدة المستعملة في التفاعلات الكيماوية حيث أنها تزيد من سرعة هذه التفاعلات دون أى تغيير في طبيعة أو نسب المواد الناتجة من التفاعل ، كما أنها لا تزيد من قيمة الطاقة الناتجة عن هذه التفاعلات . وهذا يعنى أن الانزيمات لا تدخل في التفاعلات التي تعمل فيها كعوامل مساعدة . كما أنها تشبه العوامل المساعدة الكيماوية في أن سرعة التفاعلات التي تساعد فيها تكون متلازمة تلازما طرديا مع تركيزها .

من المعروف أن النشاط الانزيمى يعتمد على كثير من العوامل الفيزيائية، فكما سبق أن بينا أن لنشاط كل انزيم مجال من قيمة الـ pH يعمل في حدوده كما أن لكل انزيم قيمة مثالية من الـ pH يكون نشاطه عليها أكبر ما يمكن . وتقع قيمة الـ pH المثالية لمعظم الأنزيمات بين ٥ - ٨ ، ولكن في بعض الحالات الخاصة قد يتسع هذا المجال ليتراوح بين pH ٢ - ١٠ .

والعامل الكيماوى المساعد يزيد فقط من سرعة التفاعل البطيء الذى يكون قد بدأ فعلا ، اذن فالعوامل المساعدة لا يمكنها بدء التفاعلات المتوقفة كلية وغير معروف إلى الآن ما اذا كان هذا هو نفس الشيء بالنسبة للانزيمات . فكثير من التفاعلات التي تحدث في وجود الانسجة الحية لا يمكن ملاحظة حدوثها في غياب هذه الانسجة ، ولكن كما سبق أن بينا أن عدد من التفاعلات الكيماوية قد يحدث على سرعات بطيئة جدا بدرجة يصعب ملاحظتها أو قياسها

بالطرق المعروفة ، ويحتمل حينئذ ان نعتبر ان الانزيمات تساعد في اتمام التفاعلات البطيئة التي تكون قد بدأت فعلا وبالرغم من ذلك ، فان هناك كثير من العلماء من يعتقد بأن الانزيمات تعمل على بدء تفاعلات جديدة لم تكن موجودة من قبل .

وتختلف الانزيمات عن العوامل المساعدة الكيماوية في كونها تتأثر بالحرارة thermolabile أى أنها تفسد بالحرارة المرتفعة . وقد تم عزل عدد كبير من الانزيمات في صورة بلورية نقية وقد تبين أنها تتكون من بروتينات يتغير تركيبها أو يفسد فعلها بالحرارة المرتفعة ، والمادة التي يساعد الانزيم في عمليات تحليلها أو في تحويلها إلى مواد أخرى تعرف عادة بمادة التفاعل substrate وقد وجد أن غالبية الانزيمات تظهر تخصصا ملحوظا لمواد تفاعلها. وعندما يكون لمادة التفاعل مشابهين أو أكثر ( isomers ) فان التخصص الانزيمي قد يكون تجاه أحد هذه المشابهات فقط . ومثل هذا التخصص الدقيق للانزيمات قد استغل فيما مضى لفصل المشابهات المخلوطة عن بعضها حيث أن الانزيم قد يعمل على مهاجمة إحداها تاركا المشابهات الأخرى. ومن الناحية الأخرى قد تكون بعض الانزيمات على درجة أوسع من التخصص بحيث أنها تهاجم أى مادة كياوية تحتوي مثلا على رابطة ببتيدية ( - ك - ا - ن يد - ) في تركيبها . في حين أن البعض الآخر من هذه الانزيمات تحلل الببتيدات إلى أحماض أمينية فقط إذا كانت تحتوي على نوع معين من السلاسل الكربونية على جانبي هذه الروابط الببتيدية .

والتخصص الانزيمي يبين أن الكائن البكتيري الذي يقوم بعدد من التفاعلات الكيماوية يجب وأن يحتوي على عديد من الانزيمات كل منها يتخصص في مساعدة تفاعل معين . وقد تكون هذه التفاعلات مرتبطة ببعضها بحيث يوفر احداها مواد تفاعل الانزيمات الأخرى بمعنى أنه ينشأ بالحليلة سلسلة من التفاعلات المرتبطة التي تعتمد كل منها على الآخر ، وكما سبق أن

بيننا أن غياب أحد هذه الانزيمات يؤدي إلى تعطيل سلسلة التفاعلات المرتبطة حيث تتكدس بالخلية مادة تفاعل الانزيم الغائب .

وتختلف كثيرا درجة توزيع الانزيمات بين البكتيريا المختلفة فاذا ، فرضنا أن سلسلة التفاعلات الخاصة بتكوين مادة أيضية هامة تتضمن أربع تفاعلات مرتبطة ، فاننا نجد أن البكتيريا تختلف في مدى احتوائها على النظم الانزيمية الأربعة ، فبينما نلاحظ خلايا بكتيرية تحتوى على الأربعة نظم انزيمية جميعا فاننا نجد خلايا أخرى تحتوى على ثلاثة وأخرى على اثنين ، وأخرى لا تحتوى منها إلا على نظام انزيمى واحد ، وعلاوة على ذلك يمكن ملاحظة بكتيريا تكون خالية تماما من هذه النظم الانزيمية الأربعة . من ذلك نرى مدى اختلاف المواد الكيميائية التى تنتج عن النشاط الكيماوى الخلوى للبكتيريا ، حيث أن كل مادة تستعملها الخلايا تمر فى سلسلة من التفاعلات تم بمساعدة نظم انزيمية معينة .

وتتميز التفاعلات الانزيمية بكونها تفاعلات عكسية بمعنى أن الانزيم الذى يساعد على اتمام تفاعل فى اتجاه معين يمكنه أيضا أن يساعد على اتمام التفاعل فى الاتجاه المضاد إذا ما توفرت الظروف الملائمة لذلك . والتفاعلات الانزيمية العكسية يمكنها أن تتم بنفس السرعة التى تتم بها التفاعلات الأصلية إلى أن يحدث توازن نهائى بين مكونات المواد المتفاعلة والناجمة من التفاعل . وهذا يعنى أن درجة تكدس أى مادة أيضية تتوقف على سرعة التفاعلات التى تتكون عن طريقها وكذلك سرعة التفاعلات العكسية التى تعمل على تحليلها . هذا وقد تهاجم جزيئات مادة معينة بكائن بكتيرى معين بطريقة معينة مثل التحلل المائى فى حين أن نفس جزيئات المادة يمكنها أن تفقد الايدروجين نتيجة لنشاط كائن بكتيرى آخر . من ذلك نرى أن الاختلافات فى النشاط الكيماوى بين البكتيريا يرجع إلى حدوث تجمعات مختلفة من الانزيمات المختلفة وإلى مدى تأثير هذه النظم الانزيمية بالعوامل البيئية الخارجية .

## طرق دراسة الانزيمات البكتيرية :

عندما ينمو كائن بكتيرى فى بيئة غذائية ، فان النشاط الكيماوى لخلاياه يتمثل فى تحليل المواد الغذائية المكونة للبيئة وفى بناء مواد خلوية جديدة . فبينما نجد أن نوعا من البروتينات يهدم ويتحلل مائيا خارج الخلية النامية ، نجد أنواعا أخرى من البروتينات تخلق بداخل الخلايا . وعدد الانزيمات المختصة بكل هذه العمليات كبيرا جدا ، كما أن نشاط كل منها فى التفاعلات التى تساعدها يكون معقدا ومرتبطا بنشاط الانزيمات الأخرى .

اذن فأول ما يمكن عمله عند محاولة دراسة الانزيمات البكتيرية أن تمنع التفاعلات البنائية داخل الخلايا وذلك بإيقاف النمو . ويتم ذلك عن طريق غسل الخلايا جيدا من آثار البيئة التى كانت نامية عليها ثم تعلق الخلايا المغسولة فى ماء مقطر أو فى محلول مناسب من ملح الطعام . ويعتبر استعمال معلقات الخلايا المغسولة من الطرق المبدئية فى دراسة الانزيمات البكتيرية . وفيما عدا بعض الحالات الخاصة فانه نادرا ماتتأثر الخلايا البكتيرية نتيجة للتمزق الاسموزى عند تعليقها فى الماء . بمعنى أن عملية غسل الخلايا بالماء لا تؤدي إلى أى تأثير ضار بنشاطها الانزيمى ، ولكن إذا كان المراد دراسته النشاط الانزيمى للسطوح الخلوية فيفضل حينئذ غسل الخلايا فى محلول ملهى ذو ضغط اسموزى مشابه لذلك الخاص بالبيئة التى كانت الخلايا نامية عليها . وحيث أن الخلايا المغسولة تحتفظ بنشاط انزيماتها ، لذلك فهى تستعمل فى دراسة التغيرات الأيضية المختلفة ، وذلك باختبار مواد تفاعل مختلفة كل بمفرده ثم ملاحظة درجة تغيره فى وجود الخلايا المغسولة العالقة بمحلول منظم Buffer ذو درجة PH مناسبة . وأحيانا يفسد نشاط بعض الانزيمات البكتيرية أثناء تحضير المعلقات المغسولة من الخلايا . وبالرغم من أنه لا يمكن الاحتفاظ بنشاط الخلايا المغسولة لفترات طويلة حيث ان معظم النشاط الانزيمى للخلايا يفسد خلال ٢٤ ساعة من تحضير المعلق ، إلا ان هناك بعض الانزيمات

مثل انزيم formic dehydrogenase تحتفظ بنشاطها لعدة أسابيع بعد تحضير المعلق حتى لو حدث للخلايا تحللا ذاتيا .

ودراسة النشاط الانزيمى بالخلايا المغسولة الكاملة قد يتأثر ببعض العوامل التى منها : سرعة مرور مواد التفاعل خلال الجدر الخلوية . وازالة نواتج التفاعل بفعل نظم انزيمية أخرى ، والاختلافات بين الظروف الفيزيو كيميائية physio - chemical conditions بداخل وخارج الخلايا ، كما ان التفاعلات المعقدة العديدة التى تتضمن تغيرات طفيفة كل منها يحدث نتيجة لنشاط نظام انزيمى مختلف قد يصعب الحكم عليها فيما إذا كانت هذه التغيرات قد تمت نتيجة لفعل انزيم واحد أو مجموعة من الانزيمات . ويمكن التغلب على هذه الصعوبات باستعمال المستخلصات الانزيمية الخلوية بمعنى أن يكون التحضير الانزيمى خاليا من الخلايا الكاملة ثم يختبر نشاطها على مواد تفاعل مختلفة فى أنابيب الاختبار . كما يمكن فصل وتنقية الانزيمات المتواجدة بالمستخلصات بعضها عن بعض باتباع طرق فصل وتنقية البروتينات المختلفة .

فعندما تكون الخلايا البكتيرية قادرة على افراز انزيمات خارجية extracellular enzymes فان مثل هذه الانزيمات يمكن الحصول عليها على صورة خالية من الخلايا الكاملة cell - free عن طريق ترشيح المزرعة البكتيرية خلال مرشحات تمنع مرور الخلايا ثم تفصل الانزيمات من الراشح بترسيبها أو إدمصاصها على مواد مناسبة مثل مسحوق الالومنيوم alumina powder أو جيل فوسفات الكالسيوم .

ودراسة الانزيمات الداخلية intracellular enzymes تقتضى تمزيق الجدر الخلوية قبل اجراء طرق العزل والتنقية المختلفة . وكما سبق ذكرنا أن الجدر الخلوية للخلايا البكتيرية ذات صلابة ملحوظة ويصعب تمزيقها إلا انه توجد طرقا خاصة لتمزيق الجدر والتخلص منها للحصول على الانزيمات الخلوية فى صورة نشطة . وتتوقف الطريقة المتبعة على نوع الانزيم المراد عزله ومدى



مقاومته للمعاملة وكذلك على درجة صلابة الجدار الخلوى . وفيما يلى بعض الطرق المستعملة لهذا الغرض :

( ا ) تعامل المعلقات المركزة من خلايا البكتيريا بمواد مثل التولوين toluene أو الاسيتون أو مخلوط من الاسيتون والاثير أو باجراء عمليات من شأنها التجفيف البسيط . وإذا تحملت الانزيمات مثل هذه المعاملات فإنه يمكن استخلاصها من بقايا الخلايا الممزقة بتخفيفها فى محلول منظم buffer ذو قيمة pH مناسبة .

( ب ) يحضن معلق خلايا البكتيريا بعد خلطه ببعض الانزيمات المحللة للبروتين proteolytic enzymes مثل الببسين pepsin أو التربسين trypsin أو الباباين papain ثم تستخلص الانزيمات من نتائج التحلل بمحلول منظم .

( ج ) تمزيق الخلايا ميكانيكيا mechanical disintegration ويجرى ذلك فى أجهزة خاصة تعرف باسم مطاحن السحق ، وتعتبر طاحونة السحق التى صممها كل من Booth & Green ( ١٩٣٨ ) من اكفا الأجهزة ذات الفاعلية فى طحن الخلايا البكتيرية ، وهى تتركب من اسطوانة من الصلب تدور بسرعة فى مسار ضيق بحيث تحدث ضغط مرتفع على الخلايا التى تدور فوقها . وهناك جهاز آخر يعرف بالـ ( Ball mill ) يتكون من كرة من الصلب تدور فى تجويف محكم من الصلب أيضا والتى تكون مغمورة فى ثانى أكسيد كربون صلب ، والتأثير المزدوج للضغط والتجميد يؤدى إلى تمزق الجدار الخلوى .

( د ) تمزق الخلايا نتيجة للاحتكاك friction السريع للخلايا بين جزيئات صلبة . فقد أوضح Werkman وزملاؤه ( ١٩٤٥ ) أن التحضيرات الكثيفة من الخلايا البكتيرية ( على صورة معجون ) يمكن سحقها فى هاون خزفى أو معدنى بعد خلطها بمرادة الزجاج . وقد صمموا فيما بعد هاون

ميكانيكى يمكنه أن يسحق كميات كبيرة من الخلايا. وقد وجد بعض الباحثون الآخرون أن مساحيق الكاربورندم وكذلك مسحوق الألمنيوم يمكن استعمالها تماما كمسحوق الزجاج لهذا الغرض .

(هـ) تمزيق الخلايا عن طريق التذبذبات vibration . فعند تعريض معلقات الخلايا البكتيرية إلى التذبذبات الصوتية العالية السرعة supersonic vibration ذات المجال الموجى المرتفع ينتج عنه تكسير للخلايا ويجب اتخاذ الاحتياطات حتى لا تؤثر هذه التذبذبات الصوتية المرتفعة المجال على تركيب الانزيمات البكتيرية المراد الحصول عليها . لذلك فتستعمل تذبذبات ذات موجات صوتية تتراوح بين ( ٥٠ - ٦٠ cycle / ثانية ) ويمكن زيادة كفاءتها بإضافة مسحوق الزجاج أو الكاربورندم إلى معلق الخلايا .

(و) يمكن إجراء بعض المعاملات الخاصة في حالة كائنات بكتيرية معينة فمثلا يمكن الحصول على انزيمات البكتيريا *Micrococcus lysodeikticus* وكذلك بعض السلالات التابعة للبكتيريا *Staphylococci* من المستخلصات الخلوية بعد معاملة الخلايا بانزيم المحلل للجدر الخلوية .

#### طبيعة الأنزيمات البكتيرية :

ان الدراسات السابق الإشارة إليها تؤدي عادة إلى التعرف على طبيعة الانزيمات المفصولة . فقد وجد أنه بالرغم من أن كل الانزيمات تتميز بصفات البروتينات فان الكثير منها يتكون من جزأين أحدهما ذو طبيعة بروتينية يعرف باسم ( apoenzyme ) والجزء الآخر غير بروتينى يعرف باسم المرافق الانزيمى coenzyme أو prosthetic group وهذا يمكنه أن ينفصل عن الجزء البروتينى من الانزيم . وعادة يكون كل من جزأى الانزيم بمفرده ، غير فعال فى سير التفاعلات إلا أن نشاط الانزيم يتمثل فى اتحاد الجزأين معا ويعرف التركيب الانزيمى الكامل باسم holoenzyme . هذا

وتختلف قوة الرابطة التي تربط بين جزأى الانزيم بعضها ببعض ، فبينما نجد أن الارتباط بينهما يكون وثيقا نجد أن البعض الآخر يرتبط الجزء غير البروتينى بالجزء البروتينى ارتباطا ضعيفا بحيث يمكن له أن يتجول بين جزيئات البروتين المختلفة . وعادة يطلق على الجزء غير البروتينى من الانزيم فى الحالة الأخيرة اسم المرافق الانزيمى coenzyme . وغير معروف أى فرق بين prosthetic group والمرافقات الانزيمية غير ذلك الذى يتمثل فى قوة ارتباطهما بالبروتين ، الا أنه قد تكون prosthetic group عبارة عن جزء مكمل للتركيب الكيماوى للانزيم فى حين أن المرافق الانزيمى يعمل كحامل متنقل لايونات الايدروجين وغيره من الايونات أو المحاميع من انزيم إلى انزيم آخر . ويبين الجدول رقم ١٧ المرافقات الانزيمية أو prosthetic group المعروفة حتى الآن .

جدول رقم ١٧ : المرافقات الانزيمية أو prosthetic group وتركيبها الكيماوى والانزيمات المسئولة .

المرافق الانزيمى أو prosthetic group	تركيبة الكيماوى	الانزيمات المسئولة
- ( TPN ) المرافق الانزيمى Coenzyme I	Nicotinamide-adeinine dinucleotide	مرافق للانزيمات المزيلة للايدروجين حيث يعمل كمستقبل للايدروجين من التفاعلات التى تعطيه . معطى له فى التفاعلات التى تحتاجه .
NADP المرافق الانزيمى 11 Coenzyme 11	Nicotinamide - adenine dinucleotide Phosphate	يعمل كمستقبل للايدروجين فى بعض نظم انزيمات ازالة الايدروجين .

المرافق الأنزيمي أو Prosthetic group	تركيبه الكيماوى	الأنزيمات المسئولة
A T P	Adenosine-triphosphate الادينوسين ثلاثى الفوسفات	يعمل كمعطي للفوسفات فى تفاعلات الفسفرة مثل تلك التى تحدث فى دورة التخمير. ويرتبط الفوسفات فى جزيئات هذه المادة بروابط غنية بالطاقة حيث ان انكسارها ينطلق عنه طاقة
FAD Flavoadenine dinucleotide	Adenine-riboflavin- dinucleotide	porsthetic group للأنزيمات التى تعرف باسم flavoproteins وهى تعمل كناقلات لللايدورجين فى تفاعلات الاكسدة والاختزال المتبادلة. ويحدث ذلك نتيجة الاكسدة الروابط المزدوجة التي تحتوى عليها حلقة ايزوالوكسازين
Riboflavin phosphate	تتكون من ريبوفلاين متصل به مجموعة فوسفاتية واحدة	يعمل Prosthetic group للأنزيمات المعروفة باسم cytochrome reductase
Coccarboxylase	Thimine diphosphate (Aneurindiphosphate)	يعمل Prosthetic group للأنزيمات المعروفة باسم carboxylases وبخاصة pyruvic carboxylase كما أنها تلعب دورا فعالا فى الأنزيمات المعروفة pyruvic decarboxylases وهى تعمل بطريقة ما غير متعرف عليها بعد فى اكسدة بعض الأحماض الدهنية.

الأنزيمات المسؤولة	تركيبه الكيماوى	المرافق الأنزيمى أو Prosthetic group
يعمل كمجموعة prosthetic للأنزيمات amino acid decarboxylases وكذلك للأنزيمات Transaminases وفى الحالة الأخيرة يتفاعل مع مجموعة الأمين بالأحماض الأمينية محولا إياها إلى أحماض كيتونية حيث يتحول هو إلى الصورة الأمينية : — pyrdoxamine phosphate وهذا يتفاعل مع الأحماض الكيتونية الأخرى محولا إياها إلى أحماض أمينية .	pyridoxal phosphate or pyrdoxamine phosphate	صورة المرافق الأنزيمى من الفيتامين ب ٦ ( B 6 )
يعمل prosthetic group للأنزيمات المعروفة باسم الكاتاليزا ، البيروكسيداز والسيتوكروم لوكسيداز - وقد يختلف تركيب السلسلة الجانبية والمحتوى عليها جزئياته تبعاً لنوع الأنزيمات التى يرافقها .	يشبه فى تركيبه الهيموجلوبين	Haematin
انزيمات الفسفرة phosphatases يعمل فقط فى وجود أيونات المغنسيوم . الأنزيمات المعروفة polyphenol ox idase يحتوى على أيونات نحاس فى تركيب جزئياتها . الأنزيم Carbonic dehydrase يحتوى على أيونات الزنك فى تركيب جزئياته .	بعض الأنزيمات تحتوى على معادن فى تركيب جزئياتها والبعض الآخر لا يعمل الا فى وجود أيونات بعض المعادن التي تعمل كمرافقات انزيمية	أيونات المعادن

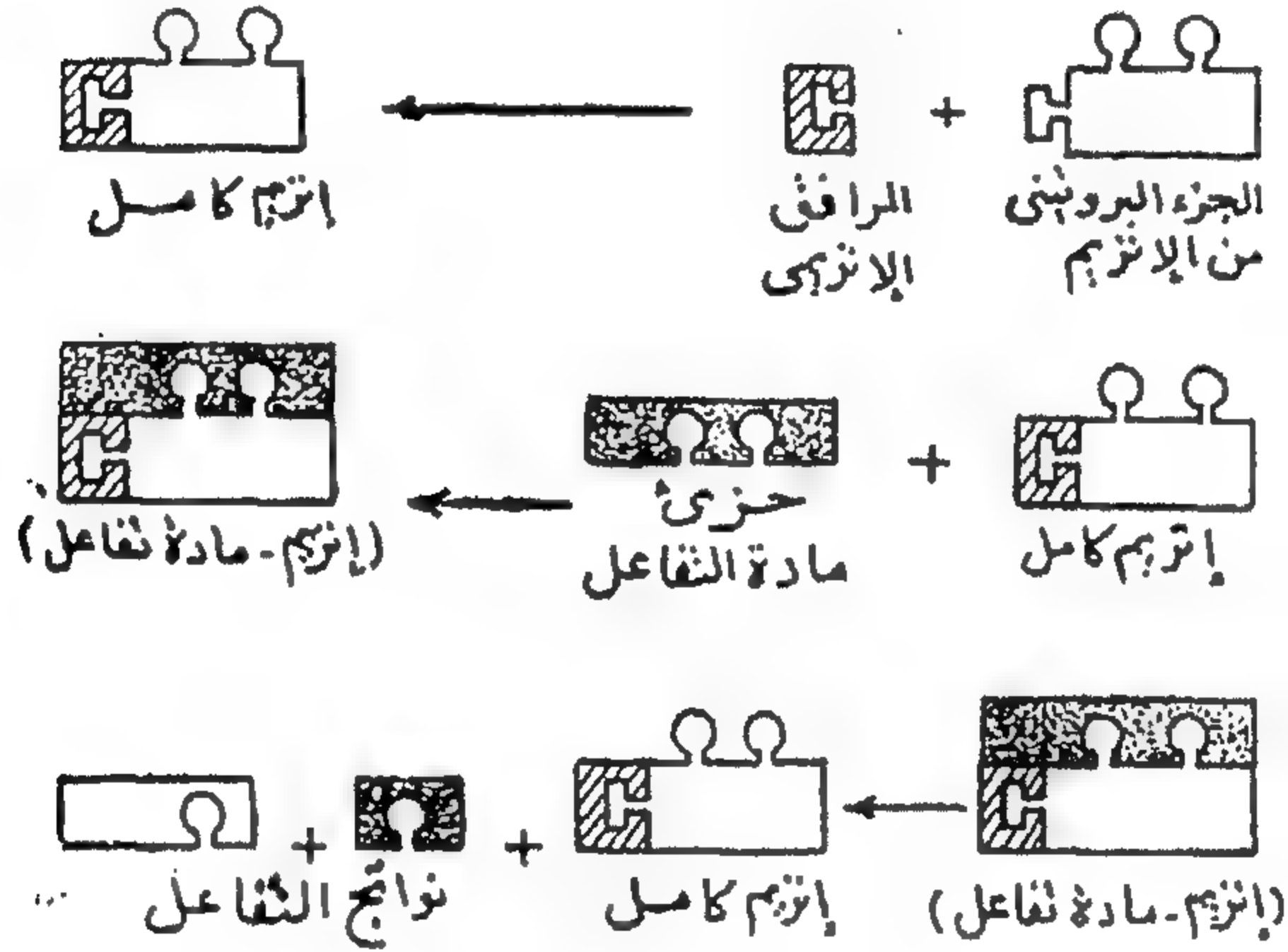


الأنزيمات المسؤولة	تركيبه الكيماوى	المرافق الأنزيمى أو Prosthetic group
تعمل prosthetic group للأنزيمات acetylases . يعمل فى التفاعلات التى تقتضى نقل مجاميع الاسيتيل فهو هام فى عملية cholineacetylation وفى تكديس الحللات أو الأوكسالاسيتيك لتكوين حمض الستريك . ويتواجد المرافق الأنزيمى فى الصورة acetylated أو nonacetylated	يحتوى على حمض pantothenic acid فى صورة معقدة تعرف باسم pantotheine كما أنها تحتوى ايضا على adenylic acid	المرافق الأنزيمى A Coenzyme A
aspartic deaminase	يحتوى على أحد أفراد مرافق للأنزيم مجموعة الفتامين B المعروف فقط . باسم البايوتين ( فيتامين H ) ويحتمل أن يكون مكونا من الببوتين وحمض الادينيليك الأ أن تركيبه الكامل لا زال معروف على وجه التحديد يتواجد فى مستخلص الخميرة	Biocytin يعرف أحيانا بالمرافق الأنزيمى Coenzyme R

### طبيعة النشاط الأنزيمى

يمكن تفهم أهمية عمل المرافقات الأنزيمية من دراسة طرق تغذية البكتيريا  
غير ذاتية التغذية التى تشترط وجود الفيتامينات (فى صورة مرافقات انزيمية)  
فى بيئاتها لكى تنمو وتتكاثر أن كما سبق أن بينا فى الباب الرابع .  
وقد يحدث أن تشترك عدة أنزيمات فى مرافق أنزيمى واحد بالرغم من

اختلاف تفاعلها . ومن المحتمل أن تقوم المرافقات الانزيمية بدور ملحوظ في تحليل مواد التفاعل الا أن التخصص الانزيمي تجاه مادة التفاعل يرجع إلى الجزء البروتيني من الانزيم . ويعتقد أنه قد يحدث نوعاً من الارتباط غير المحكم بين مادة التفاعل والجزء البروتيني من الانزيم قبل حدوث التفاعل وأن وجود المرافق الانزيمي يسمح بزيادة الارتباط بينهما وبين الرسم التخطيطي التصويري (شكل ٩٨) أهمية المرافقات الانزيمية في حدوث التفاعلات الانزيمية .



شكل ٩٨ : رسم تخطيطي لظهور طريقة اتحاد البروتين الانزيمي مع المرافق الانزيمي لتكوين جزئ أنزيمي كامل و كيفية اتحاد الأخير بمادة التفاعل لاحظ تغيير جزئ مادة التفاعل وتكوين جزيئان جديدان هما ناتج التفاعل . كما يلاحظ أن جزئ الانزيم الكامل لم يتغير ويمكنه إعادة التفاعل من جديد .

وعلاوة على ماتقدم نجد دائماً أن الفعل الانزيمي لا يعتمد فقط على وجود المجموعة الكيماوية التي سوف تتغير عند اتمام التفاعل ، بل أيضاً على المجاميع الأخرى في جزأى مادة التفاعل ، والأخيرة تكون لازمة لارتباط المرافق الانزيمي بالبروتين الانزيمي (شكل ٩٨) .

ولايضاح ماتقدم نسوق المثال التالي : فالانزيم لايسن ديكاربوكسيلاز Lysine decarboxylase ، الذي يهاجم مجموعة الكربوكسيل بالحمض الأميني ل — لايسن .

( يد<sub>١</sub> - كيد<sub>٢</sub> - كيد<sub>٣</sub> - كيد<sub>٤</sub> - كيد<sub>٥</sub> - كيد<sub>٦</sub> - كيد<sub>٧</sub> - كيد<sub>٨</sub> )  
لا يمكنه أن يهاجم مجموعة الكاربوكسيل من جزيء هذا الحمض الأميني  
إلا إذا كانت مجموعتيه الأمينيتين سليمتين وغير مشغولتين بمجاميع أخرى .  
كما أن هذا الأنزيم لا يمكنه مهاجمة المشابه الآخر ( dextro ) من اللايسين كما  
لا يمكنه مهاجمة حمض L- ornithine والذي يختلف عن اللايسين فقط  
في نقص ذرة كربون واحدة من سلسلته الكربونية . فقبل أن يهاجم هذا  
الأنزيم مادة تفاعله يجب أن يتوفر ما يأتي :

- ١ - مجموعة كاربوكسيل ( - كيد ) خالية ، ٢ - مجموعة أمين ( - نيد )  
( في الوضع laevo ، ٣ - مجموعة أمين أخرى في نهاية سلسلة الجزيء  
٤ - وجود مسافة تقدر بخمس ذرات كربونية في السلسلة بين مجموعتي  
الأمين .

ان مجاميع الكربوكسيل ومجاميع الأمين مجاميع قطبية فعالة كما ويا polar  
ويعتقد أنه يحدث اتحاد بين هذه المجاميع والمجاميع المقابلة لها على سطح  
البروتين الانزيمي قبل حدوث التفاعل decarboxylation والذي يحدث  
في هذه الحالة أن جزيء اللايسين يرتبط بجزيء البروتين الانزيمي عن طريق  
مجموعتيه الأمينيتين قبل فصل ( ك<sub>١</sub> ) من مجموعة ( - كيد ) . وإذا استبدل  
أى من المجموعتين الأمينيتين في جزيء اللايسين بمجموعة مثليه كيد<sub>٢</sub> مثلا  
فإن هذا يمنع الارتباط بينه وبين البروتين الانزيمي ويتوقف التفاعل . كما أن  
حدوث أى تغيير في طول السلسلة الكربونية يضعف مجموعتي الأمين في وضع  
غير ملائم لحدوث الارتباط بين مادة التفاعل والبروتين الانزيمي ومثل هذه  
العلاقة بين الانزيم ومادة تفاعله قد توضح لنا أيضا كيف يمكن للانزيم أن  
يهاجم المشابه laevo ولا يمكنه أن يهاجم المشابه dextro من جزيئات نفس  
المادة . حيث أن الأول يسهل ارتباطه بالبروتين الانزيمي في حين لا يمكن ذلك  
للمشابه الآخر .

وهذه النظرية أعنى أن كل من مادة التفاعل وسطح البروتين الانزيمى يجب أن يناسب بعضها بعض فى أمكنة معينة قد شُهِت فى الماضى بالقفل ومفتاحه حيث يجب أن يلائم المفتاح القفل قبل حدوث أى شىء آخر .

وإذا كانت المجاميع المخصصة للارتباط والمتواجدة على سطح الانزيم تختلف قليلا فى مواضعها عما يجب أن تكون عليه لحدوث الارتباط بالمجاميع الفعالة من مادة التفاعل فإن الارتباط بينهما حينئذ يكون ضعيفا بدرجة لا تسمح بحدوث التفاعل .

واحتياج الانزيمات إلى مرافقات انزيمية عضوية كانت أم معدنية (ايونيه) تعمل على جعل سطوح البروتين الانزيمى أكثر صلاحية للارتباط بمسواد التفاعل .

وهناك أربع حالات عامة توضح أهمية المرافقات الانزيمية فى تسير التفاعلات .

( ا ) إذا لم يحتاج الانزيم إلى مرافق فإن سطح البروتين الانزيمى يكون ذا تركيب كاف لحدوث الارتباط بينهما .

(ب) إذا احتاج الانزيم إلى مرافق انزيمى معدنى وليس عضوى . فهنا يمكن القول أن القوى على سطح جزيئات البروتين الانزيمى ليست مناسبة لحدوث الارتباط بمادة التفاعل وأن وجود ايونات المعدن وادمصاصها على سطح البروتين فى أمكنة معينة ، تضفى عليه التركيب المناسب لحدوث الارتباط بينه وبين جزيئات مادة التفاعل .

( ح ) إذا احتاج الانزيم إلى مرافق عضوى فقط ، فإن ادمصاص المرافق الانزيمى على سطح البروتين الانزيمى يجعله ، فى حالة أصلح للارتباط بمادة التفاعل .

( د ) احتياج الانزيم إلى كل من المرافقات العضوية وغير العضوية فإن

ذلك يمكن تفسيره بطريقتين : ١ - الاحتياج للأيونات المعدنية يهيء المكان المناسب على سطح الانزيم لادمصاص المرافق العضوى وهذا بدوره يجعل سطح الانزيم أكثر ملائمة للارتباط بمادة التفاعل . أو أن كلا من المرافق الانزيمى الأيونى والعضوى يدمصان على سطح الانزيم فى موضعين مختلفين على سطح الانزيم وهذا يهيء السطح المناسب للارتباط بمادة التفاعل .

ويجب أن نعلم أنه يمكن لبعض المرافقات الانزيمية أن تؤدي وظيفة أخرى غير تهيئة السطح المناسب للتفاعل حيث أن بعضها يتدخل فى التفاعل نفسه مثل DPN أو TPN التى تنقل الايدروجين من مادة إلى أخرى . والذي يحدث أن المرافق الانزيمى يختزل أثناء العملية  $DPNH_2$  أو  $TNPH_2$  ثم تتأكسد عندما يعطيه للمواد الأخرى . وهناك مرافق انزيمى أخرى (المرافق الانزيمى A Coenzyme) ينقل مجاميع الاسيتيل (كيدس - ك) من نظام انزيمى إلى آخر .

ويجمل أن نشير هنا إلى الظاهرة التى تعرف بالتثبيط الانزيمى التنافسى competitive inhibition والتى سبق وصفها فى الباب الرابع من هذا الكتاب . الا أننا سنشير هنا إلى أهميتها من ناحية عكسية الارتباطات الانزيمية ، فلكى يستمر التفاعل الانزيمى يشترط ارتباط مادة التفاعل ارتباطا عكسيا بحيث أنه عقب حدوث التفاعل تترك نواتج التفاعل سطح الانزيم ، لكى يرتبط ثانية بجزيئات أخرى من مادة التفاعل .

أما إذا حدث الارتباط بين المجاميع الفعالة من سطح الانزيم بمادة تنافسية لا تتركه أى أنها لا تتحول إلى ناتج تفاعل فتظل مرتبطة بـ سطح الانزيم معطلة له ومادة لوصول جزيئات مادة تفاعل جديدة إليه . كل هذا يؤدي إلى إيقاف التفاعل ، بمعنى أن التفاعل الذى يساعد فيه الانزيم لا يتم ، ومثل هذه الحالة يمكن أن يشار إليها أيضا بأنها عملية تثبيط انزيمى تنافسى . ومثال ذلك حمض المالونيك (كالايد - كيدس - كالايد) الذى يتحد بانزيم Succinic dehydrogenase مانعا مهاجمة الانزيم لحمض السكسينيك ( كالايد - كيدس - كيدس - كيدس - كيدس )



لذا ايد). وقد سبق أن بينا فعل مركبات السلفونا ميد التنافسي للنشاط الانزيمى  
الخلوى اللازم لتكوين حمض الفوليك .

### انواع الانزيمات البكتيرية

تقسم الانزيمات تبعاً للتفاعلات التى تعمل فيها كعوامل مساعدة فالانزيمات  
التي تساعد فى تفاعلات إزالة الأيدروجين تعرف باسم dehydrogenases  
وتلك التي تساعد فى تفاعلات إزالة الأيدروجين تعرف باسم decarboxylases  
ويشار أيضاً إلى الانزيم علاوة على ذلك باسم مادة التفاعل التي  
يعمل عليها الانزيم فيقال pyruvic decarboxylase أو succinic dehydrogenase

وتحتوى الخلايا البكتيرية على عدد كبير من الانزيمات المختلفة والتي تقوم  
بالمساعدة فى التفاعلات الأساسية التالية :

### اولاً : الأكسدة والاختزال Oxidation and Reduction

من الناحية الكيماوية يقال أن المادة تأكسدت إذا ما فقدت الكثرونات  
واختزلت عندما تكتسب الكثرونات جديدة وحينما تحدث عمليات الأكسدة  
فإنه يحدث فى نفس وقت عملية اختزال حيث أن الالكثرونات التي تفقدها  
مادة معينة تكتسبها مادة أخرى . والأمثلة التالية قد توضح عمليتي الأكسدة  
والاختزال المرتبطتين .

١ — عندما يحرق عنصر الزنك (الحارصين) فى وجود الأكسجين يتكون  
المركب المعروف بأكسيد الزنك (الحارصين) طبقاً للمعادلة التالية :



ولترجمة هذا التفاعل بلغة تبادل الالكثرونات. يجب أن نراعى الاختلافات  
التي قد تكون قد حدثت فى تكافؤ المواد المتفاعلة . وتكافؤ العنصر عندما  
يتواجد فى مركب هو عبارة عن عدد الالكثرونات التي تكتسبها أو تفقدها

كل ذرة من ذراته أو قد تقسمها مع ذرات العنصر الآخر في المركب .  
والعنصر في حالته الحرة غير المرتبطة في صورة مركبات ، تعرف بأن لها  
تكافؤ يقدر بصفر . إذن فالمركب اكسيد الزنك الناتج يمكن كتابته معادلته  
هكذا  $x + + + -$  . من ذلك يتضح أن في التفاعل السابق قد حدثت التغيرات  
التالية في تكافؤ الزنك والأكسجين .

خ تغير من صفر إلى  $+ ٢$  حيث أنه فقد الكترونين بمعنى أنه تأكسد  
٢ تغير من صفر إلى  $- ٢$  حيث أنه اكتسب الكترونين بمعنى أنه اختزل

٢ — عندما يعامل عنصر الزنك بحمض الايدروكلوريك فإن المعدن  
يتأكسد أيضا طبقا للمعادلة التالية



ويلاحظ أن الحارصين قد فقد هنا أيضا الكترونين ( تأكسد ) وأن  
الايدروجين قد اكتسب الكترونين أيضا (اختزال) . كما يلاحظ أن هذا  
التفاعل قد تم دون تدخل للاكسجين . ولكن لازالت الصفة الدائمة لعملية  
التأكسد هو فقد الالكترونات وفي نفس الوقت تحدث عملية اختزال وهي  
اكتساب الكترونات .

من ذلك يتضح لنا أن عمليات الأكسدة ليست مقصورة على اتحاد المواد  
بالأكسجين وهذا واضح أيضا في أن بعض البكتيريا يمكنها أن تنمو في  
غياب الأكسجين anaerobically ولكنها تكون قادرة على الحصول على  
الطاقة اللازمة لها من عمليات الأكسدة . لهذا يلزم أن نميز بين عمليات الأكسدة  
البيولوجية التي تستعمل الأكسجين الغازي وتلك التي لا تستعمله . وتعرف  
عمليات الأكسدة البيولوجية الهوائية التي تتبع النوع الأول (تستعمل الأكسجين)  
اسم التنفس respiration في حين أن الأكسدة البيولوجية غير الهوائية  
(في غياب الأكسجين) تعرف باسم التخمرات fermentation . وكلا  
العمليتين أعني التنفس والتخمر تعتبر الطرق الأساسية للحصول على الطاقة

اللازمة للخلايا الحية حيث أن كلا منهما يؤدي إلى أكسدة بعض المواد ولكنهما يختلفان عن بعضهما في الطريقة التي يزال بها الأيدروجين.

وعمليات الأكسدة والاختزال البيولوجيتين تتم بمساعدة نوع من الانزيمات أطلق عليها اسم الانزيمات المزيله للأيدروجين dehydrogenases ، وكل متخصص لمادة تفاعل معينة وقد تم عزل عددا كبيرا منها من الأنسجة الحيوانية ومن خلايا الخميرة وخلايا البكتيريا ومن أهم هذا النوع من الانزيمات والتي عزلت من البكتيريا *E. coli* تلك التي تزيل الأيدروجين من حمض الفورميك محولة إياه إلى (كأ) ، وتلك التي تحول حمض المالك إلى حمض اكسالو استيك ، وتلك التي تحول كحول الايثايل إلى اسيتالدهيد ، وتلك التي تحول حمض السكسينيك إلى حمض فيوماريك . وتختلف هذه الانزيمات في حالة التنفس عنها في حالة التخمر حيث أنها توصل الأيدروجين في الحالة الأولى إلى الأكسجين الغازي في حين أن الأيدروجين المفصول في حالة التخمر لا يوصل أو يستقبل بالأكسجين . وسوف نناقش هذا النوع من الانزيمات بشيء من التفصيل في الفصل التالي .

#### ثانيا : التحلل المائي : Hydrolysis

انزيمات التحلل المائي hydrolytic enzymes هي المسئولة عن العمليات التي تعرف بعمليات الهضم والتي يتحلل فيها البروتين إلى أحماض أمينية ، والدهون إلى أحماض دهنية وجلسيرول ، والكربوايدرات المعقدة إلى عديدات تسكر أقل تعقيدا أو إلى سكريات أحادية .

وانزيمات تحليل البروتينات proteolytic enzymes ، يمكنها أن تكسر الروابط الببتيدية (—كأ— نيد—) . فهي تكسر الببتيدات المحتوية على هذه الروابط إلى مركبين أحدهما يحتوى على رابطة كربوكسيل حرة (كأيد) والأخرى تحتوى على مجموعة أمين (— نيد٢) حرة نتيجة لتكسير الرابطة الببتيدية .

وتختلف الانزيمات المحللة للبروتين في تخصصاتها نحو المجاميع الكيماوية المتواجدة على جانبي الرابطة الببتيدية . ونحو طول السلسلة الببتيدية التي تهاجمها . فبعضها يهاجم الببتيدات ذات السلاسل الطويلة أو الجزيئات البروتينية الكبيرة وهي في حالتها الطبيعية ، والبعض الآخر يهاجم البروتين فقط بعد هرجلة الجزيئات البروتينية ، والبعض الآخر يهاجم البوليبتيدات ذات السلاسل القصيرة كما نجد أن هناك بعض الانزيمات المتخصصة لتحليل الببتيدات ذات الأعداد المحدودة من الأحماض الأمينية ( ٢ ، ٣ ، ٤ ) . وبعض هذه الانزيمات التي يطلق عليها اسم peptidases تظهر تخصصا نحو حمض أميني معين على جانبي الرابطة الببتيدية حتى تتمكن من كسرها . وبالرغم من أن الانزيمات proteases أو peptidases المعزولة من الأنسجة الحيوانية قد درست بالتفصيل إلا أن المعلومات عن تلك الخاصة بالخلايا البكتيرية لازالت قليلة نسبيا ؟

وحيث أن جزيئات البروتين لا يمكن مرورها خلال الجدر الخلوية ، إذن فلهضمها يجب أن تفرز الخلية البكتيرية أنزيمات محللة للبروتين خارج حدودها في البيئة حيث تتم عمليات الهضم . وهذه القدرة تبدو أنها محصورة في أنواع بكتيرية قليلة . إلا أن غالبية البكتيريا يمكنها أن تهضم جزيئات أبسط تركيبا مثل الببتون والببتيدات العديدة polypeptides ، وباستثناء حالات فردية لم يتم بعد عزل أو فصل الانزيمات المسؤولة عن هذا التحلل وهناك بعض البكتيريا يمكنها إفراز انزيم ( الجيلاتيناز gelatinase ) الذي يحلل ، الجيلاتين مائيا ، وبالتالي يمكنها أن تسيل ببتات الجيلاتين التي تنمو عليها ومثل هذه القدرة تستغل كصفة تفرقية بين البكتيريا في الأغراض ، التصنيفية وجدير بالذكر أن القدرة على إفراز الجيلاتيناز لا تعني أن الخلايا تكون قادرة على إفراز الانزيمات الأخرى المحللة للبروتينات المعقدة proteases .

وقدرة البكتيريا على تحليل عديدات السكر مائيا ، يقتضي أيضا

إفراز انزيمات خارجية . كما أن هذه القدرة تكون عرضة للتصنيفات شأنها شأن الصفات التخمرية التي تستعمل كصفات هامة في أغراض التقسيم والتصنيف . ودرجة التخصص الانزيمى فى تحليل عديدات السكر مائيا تعتمد على طبيعة الروابط التي تربط وحدات السكريات الأحادية فى سلسلة عديدات السكر . فمثلا نجد أن البكتريا *Glostridium welchii* لا يمكنها تحليل النشا إلا إذا سبق تنميتها فى وجود النشا لفترة من الزمن . كما أن مثل هذه البكتريا التي تكون قد تطبعت على تحليل النشا يمكنها أيضا أن تحلل سكر المالتوز والجليكوجين مائيا . وبالمثل إذا ما أقلمت هذه البكتريا على النمو فى وجود المالتوز فإنه يمكنها تحليل كل من النشا والجليكوجين . من الواضح إذن أن الانزيم أو الانزيمات اللازمة لتحليل النشا أو الجليكوجين أو المالتوز مائيا ، لا يمكنها أن تتكون إلا إذا نمت الخلايا أولا فى وجود أحد هذه المواد الكربوهيدراتية وقد وجد أن التنمية المبدئية لهذه البكتريا فى وجود الجلوكوز لا تؤدي إلى إفراز الانزيمات اللازمة لتحليل المواد الكربوهيدراتية المعقدة السالفة الذكر . ويمكن أن نفترض على ضوء ماتقدم أن مثل هذه الانزيمات ، تعتبر انزيمات طبيعية ، تكون متخصصة لتحليل روابط معينة كالتى تتواجد بجزئيات سكر المالتوز .

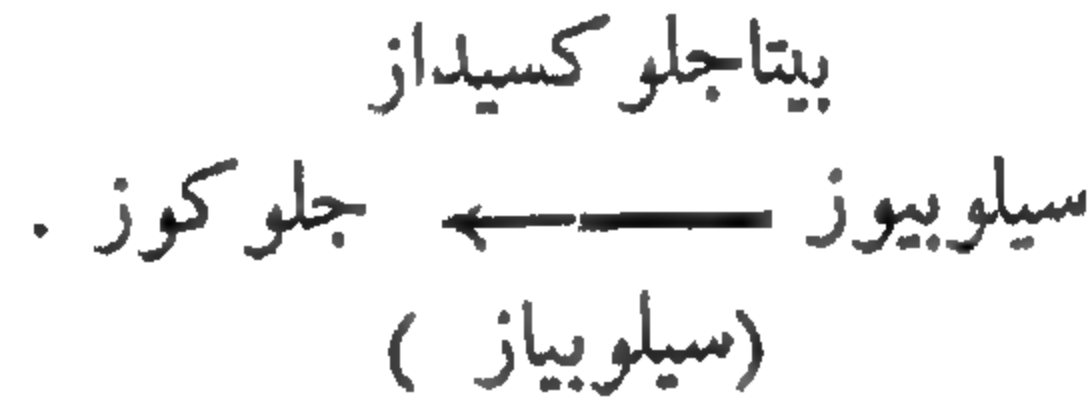
ويتم تحليل النشاط بواسطة البكتريا *C1. acetobutylicum* عن طريق انزيمين الأول هو أحد إنزيمات amylases والذي تحلل النشا إلى مالتوز ، والثانى عرف بأنه انزيم maltase يحلل سكر المالتوز إلى وحدات من سكر الجلوكوز .

ويهاجم السليلوز بعديد من الكائنات الحية الدقيقة نتيجة لإفرازها انزيمات كانت تعرف فيما مضى باسم سيللاز cellulase تحلل السليلوز إلى سيلوبيوز cellobiose ثم يعمل انزيم آخر يسمى بيتاجلو كوسيداز (سيلوبياز) على السيلوبيوز محلا لإياه إلى وحدات من سكر الجلوكوز .



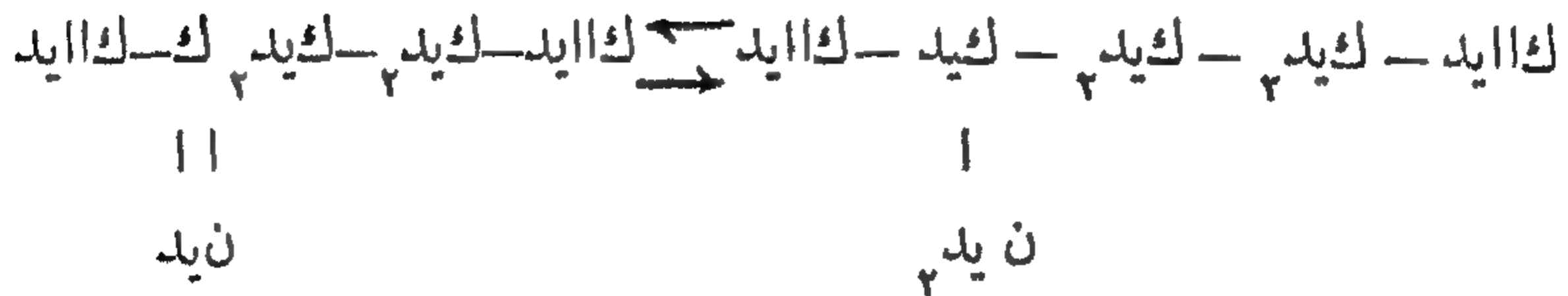
واقترح حديثا وجود انزيم يطلق عليه (G 1) يهاجم السليلوز مؤديا فعله على السليلوز البلورى المقاوم لتشرب الماء نظرا لشدة ارتباط وحداته وأن فعل هذا الانزيم يضعف هذا الارتباط وتجعل الياف السليلوز ذات قدرة أكبر على تشرب الماء . ثم تبدأ مجموعة أخرى من الانزيمات تعرف (Cx) محولة المواد غير الذائبة الناتجة من فعل الانزيم  $C_1$  والتي هي عبارة عن سلاسل مستقيمة من بولى انهدرو جلوكوز polyanhydroglucose إلى سكريات

ذائبة وبخاصة سيلوبيوز . ويعقب ذلك أن يقوم الانزيم B . glucocidase (سيلوبياز) تحليل السيلوبيوز إلى وحدات جلوكوز كما هو مبين بالمعادلة التالية سيليلولوز  $C_1$  سلاسل مكونة من البولى انهدوجلو  $Cx(a,b,c)$  سيلوبيوز

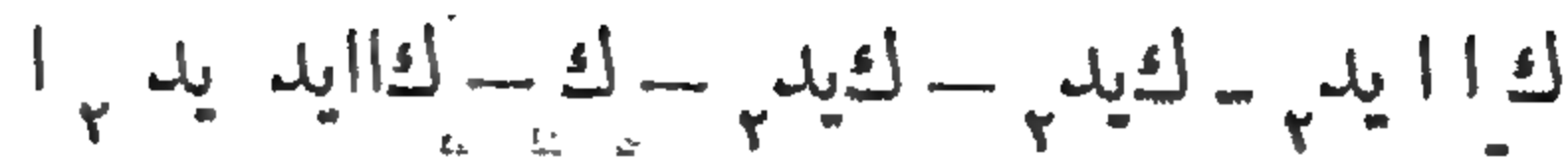


### ثالثا : ازالة مجاميع الامين : Deamination

ان عملية ازالة مجاميع الامين من جزيئات الأحماض الأمينية ، والامينات نادرا ماتم على خطوة واحدة ولايضاح ذلك نسوق المثال التالى للانزيم المعروف باسم L-glutamic acid deaminase الذى يوجد بالبكتيريا *E. coli* حيث تحدث الخطوة الأولى بإزالة الايدروجين من الحمض الأميني وتحويله إلى الصورة اليمينو المقابلة



ويعقب هذا حدوث تحلل مائى لحمض اليمينوجلو ماتيك الناتج مؤديا إلى انفصال مجموعة الامين على صورة امونيا .



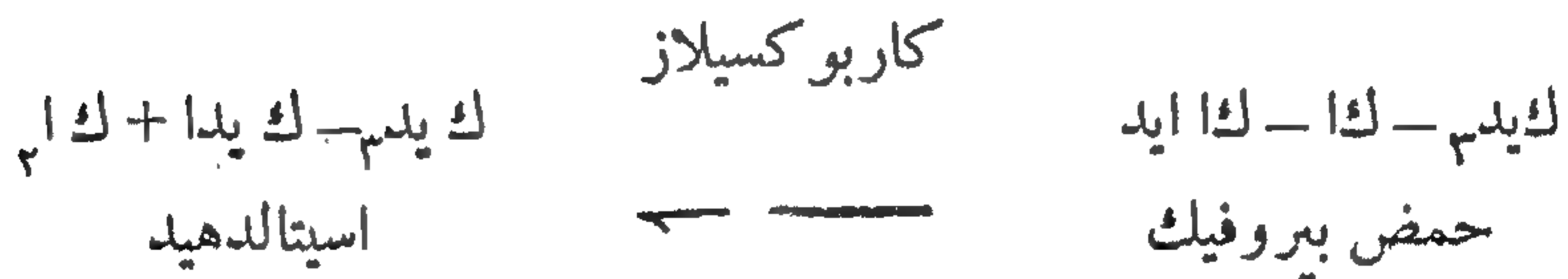
ن يد



ويمكن لعملية إزالة مجاميع الأمين من لأحماض الأمينية عن طريق اختزالي ، أو طريق تحلل أو طريق غير تشيعي desaturation كما سيلي ذكره عند مناقشة التحولات الأيضية للبروتينات والأحماض الأمينية .

رابعاً : إزالة مجاميع الكربوكسيل : Decarboxylation

تلاحظ عملية إزالة ك-ا من مجاميع الكربوكسيل في جزيئات الأحماض الأمينية أو الأحماض الكيتونية ، فيمكن مثلاً للأحماض الفا كيتونية α - Ketoacids بخلايا الخميرة أن تتحلل عن هذا الطريق بواسطة انزيم الكاربوكسيلاز carboxylase والذي أمكن عزله ودراسته في صورة نقية . ويتكون هذا الانزيم من جزء بروتيني مرتبط ارتباطاً غير محكم بمرافق انزيمي هو فوسفات ثنائي الثيامين thiamindiphosphate . ويهاجم هذا الانزيم جزيء الحمض الكيتوني فاصلاً منه جزيء ثاني أكسيد الكربون وتاركاً الألدهيد المقابل طبقاً للمعادلة التالية .



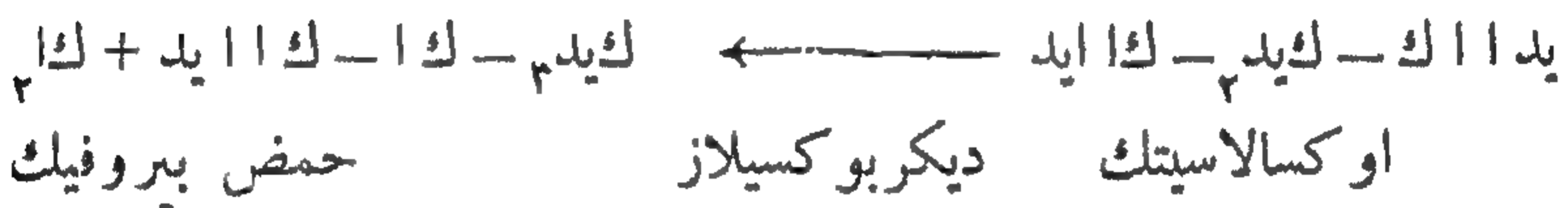
وعادة يهاجم حمض البيروفيك عن طريق هذا الانزيم بدرجة أكثر من غيره من الأحماض الكيتونية ويلاحظ أنه كلما زاد طول السلسلة الكربونية للحمض المهاجم كلما بطؤ معدل تحلله عن هذا الطريق .

ولم يلاحظ انزيم الكاربوكسيلاز ضمن المحتويات الانزيمية للبكتيريا *E. coli* ويبدو أنه ليس له دور كبير في التحولات الأيضية البكتيرية . إلا أن تحلل

حمض البيروفيك داخل الخلايا البكتيرية وتحوله إلى اسيتالدهيد لا تعتبر عملية بسيطة ولكنها تقتضى عمليات أخرى تحتاج بدورها إلى وجود ثيامين ثنائى الفوسفات .

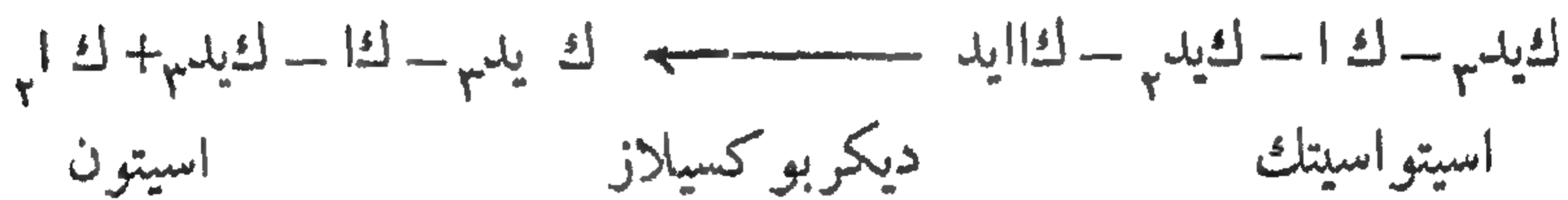
وانزيمات الكاربوكسيلاز المعزولة من خلايا الخميرة وجد أنها تظهر تخصصا للأحماض الكيتونية التى تهاجمها ، ولكن فى بعض البكتيريات نجد انزيمات أخرى تكون أقل تخصصا حيث يمكنها فصل ثنائى أكسيد الكربون من أى حمض كيتونى . فالبكتيريا التابعة للجنس *Azotobacter* وكذا البكتيريا *Micrococcus lysodeikicus* تحتوى على انزيم يعمل على فصل ك<sub>٢</sub> من حمض الاوكسالاسيتك محولا إياه إلى حمض بيروفيك كما فى المعادلة التالية :

او كسالاسيتك



ووجد أيضا أن البكتيريا *Cl. acetobutylicum* تمتلك انزيم يمكنه المساعدة فى عملية فصل ك<sub>٢</sub> من حمض الاستواسيتك محولة إياه إلى اسيتون كما يلى :

استواسيتك



وقد درست كل هذه الانزيمات باستعمال المستخلصات الخلوية ويبدو أنها لا تحتاج إلى مرافق انزيمى (ثيامين ثنائى الفوسفات) .

ويمكن لبعض البكتيريات أن تهاجم أيضا بعض الاحماض الأمينية المعينة لتفصل منها جزيء ثنائى أكسيد الكربون ومحولة إياها إلى الامينات المقابلة كما فى المعادلة التالية :

(م) — كيد — ن يد — ك ا ا يد — (م) — ك يد — ن يد — ن يد  
حمض امينى                      الامين المقابل

والانزيمات المزيلة لثانى أكسيد الكربون من الأحماض الأمينية تعرف باسم amino-acid decarboxylases ، يكون كل منها متخصصا لمهاجمة حمض امينى معين . ومثل هذه الانزيمات والتي تم عزلها إلى الآن من خلايا البكتيريا ، تلك المتخصصة لمهاجمة حمض اللايسين والأرجينين ، والهستيدين والاورنوثين والتايروسين وحمض الجلوتاميك . ومن الملاحظ أن كل هذه الأحماض الأمينية تحتوى على مجموعتين فعاليتين غير مجموعة الالفامين ، ومجموعة الكربوكسيل الأولى ، فإذا حدث أن عطلت المجموعة الفعالة الثالثة (المجموعة الأمينية الثانية فى كل من اللايسين والاورنوثين والأرجينين) أو (مجموعة الهيدروكسيل فى التايروسين) أو (مجموعة الكاربوكسيل الثانية فى حمض الجلوتاميك) بأى طريقة من الطرق فإن هذا يؤدى إلى توقف عملية فصل ثانى أكسيد الكربون . وهذا يوضح كما سبق أن بينا أن مادة التفاعل ترتبط بالبروتين الانزيمى فى موضعين على الأقل غير مجموعة الكاربوكسيل التى ستهاجم .

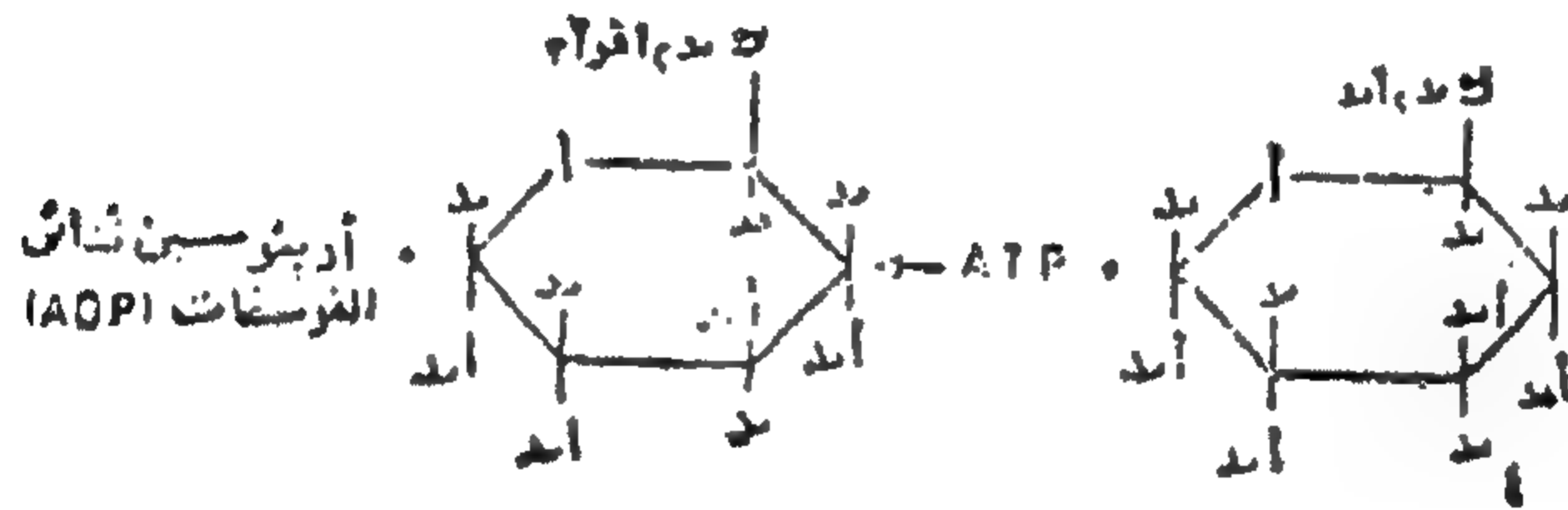
وكما سبق أن ذكرنا أن ناتج عملية إزالة ك<sub>٢</sub> من الأحماض الأمينية ينتج عنه تكوين الأمينات amines المقابلة فيما عدا حمض الجلوتاميك الذى ينتج عنه حمض البيوتيريك الأمينى amino butyric . وقد وجد أن أنزيمات amino-acid decarboxylases تتطلب مرافقا أنزيميا يمكن الاستعاضة عنه بإضافة البيرودوكسال فوسفات Pyridoxal phosphate .

خامسا : عمليات الفسفرة : phosphorylation

إن عمليات الأكسدة غير الهوائية للكربوايدرات بخلايا الخميرة والأنسجة الحيوانية تقتضى فسفرة هذه الكربوايدرات مبدئياً عن طريق سلسلة مسن

التفاعلات التي تتضمن المركب الأدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) والفوسفات غير العضوية . والمركبات المفسفرة تدخل في تفاعلات عديدة مؤدية إلى . تكوين المركب المعروف باسم فوسفو بيروفيك والذي ينفصل منه الفوسفات قبل أن تنتهى العمليات النهائية في التخمر .

وكما سنبين فيما بعد فإن تخمر الجلوكوز بواسطة خلايا البكتيريا يقتضى نفس التفاعلات الأساسية كالتى تتم خلايا الخميرة . وبواسطة لازالت الخطوات الوسيطة من عمليات فسفرة الجلوكوز وكذا الانزيمات المسؤولة عن ذلك غير مدروسة بالتفصيل في حالة الخلايا البكتيرية إلا أنه يحتمل كثيراً أن تكون الخطوة الأولى في هذه التفاعلات هو انتقال الفوسفات من المركب ادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) إلى الذرة رقم ٦ من الجلوكوز بواسطة انزيم، الهيكسوكايناز hexokinase كما في المعادلة التالية :



وكثير من التخمرات الأخرى بواسطة البكتيريا تحدث فقط في وجود الفوسفات ويكون حدوثها مقروناً بأخذ الخلايا للفوسفات من البيئة . ولم يبحث بعد تفاصيل التغيرات التي تحدث نتيجة لهذه التخمرات ولكن من الصعب تجاهل عمليات الفسفرة في حالة الأكسدة غير الهوائية للكربوايدرات حيث أن عمليات التخمر الكربوايدراتي تمثل المصدر الرئيسى للطاقة اللازمة للكائنات غير الهوائية . ويبدو في الحالات التي تم دراستها بالتفصيل ، أن إدماج الفوسفات بالمركبات العضوية على درجات منخفضة من الطاقة وأنفصاله عنها في الخطوات النهائية لعمليات التخمر من المركبات التي يكون الفوسفات



مرتبطاً بها عن طريق روابط غنية بالطاقة تعتبر المصدر الرئيسى للطاقة بالخلايا. وسوف نبين هذه النقطة بشئ من التفصيل عند مناقشة التحولات الأيضية للكربوايدرات .

ويوجد كثير من الأدلة على أن الطاقة المتحصل عليها من عمليات الأكسدة الهوائية المختلفة تنطلق أيضاً من تكوين وتكسير الروابط الفوسفورية الغنية ، بالطاقة. فقد وجد أن أكسدة حمض البيروفيك هوائياً بفعل الأنزيم pyruvic oxidase في البكتيريا *Lactobacillus delbrukii* يتم فقط في وجود الفوسفات متضمناً تكوين المركب فوسفات الأسيتيل acetyl phosphate كخطوة مبدئية في التفاعل كما يلي :



وعمليات الفسفرة يمكنها أن تحدث أيضاً في كثير من التفاعلات الأخرى غير التخمر أو الأكسدة الهوائية ، والدليل على ذلك المواد المفسفرة العديدة التى يمكن عزلها والتي تمثل مركبات وسطية لتفاعلات أيضية معينة في خلايا الأنسجة الحية .

الظروف التى تؤثر على تكوين الإنزيمات بالخلايا البكتيرية :

المحتويات الأنزيمية للخلايا الحيوانية تكون ثابتة نسبياً حيث أن طبيعة وضعها في هذه الخلايا يجعلها أقل عرضة للتغيرات البيئية الشديدة في حين أن الخلية البكتيرية تكون عرضة لتأثير التغيرات البيئية المستمرة بدرجة واضحة .

فمن الملاحظ أن الكائن البكتيرى الواحد لا يمتلك كل الأنزيمات اللازمة للتفاعل مع كل الظروف البيئية في وقت واحد ، ولكن المحتويات الأنزيمية الحقيقية للخلايا البكتيرية تكون محدودة بدرجة كبيرة بالظروف الخارجية التى تكون سائدة أثناء تكوين كل من محتوياتها الأنزيمية . وبالتالي فإن الخلية التى تنمو في ظروف هوائية تكون مجهزة بأنزيمات الأكسدة ، في حين أن

تلك التي تنمو في ظروف غير هوائية تكون خاية من هذا النوع من الأنزيمات ولكنها تكون مجهزة بالانزيمات الخاصة بالتحويلات الأيضية غير الهوائية . من ذلك نرى أن التركيب الأنزيمي الحقيقي للخلية البكتيرية يختلف بدرجة كبيرة إلا أن بعض الاختبارات البيوكيميائية التي تبديها الخلايا البكتيرية تستعمل أحيانا للتعرف على الأجناس والأنواع المختلفة ولكن يشترط أن تجري مثل هذه الاختبارات تحت ظروف قياسية للنمو حيث يمكن لها في هذه الظروف أن تمثل المحتويات الحقيقية للكائن البكتيري المختبر .

إذن فالمحتويات الأنزيمية الحقيقية للخلية البكتيرية هو ذلك الجزء من قدرتها الأنزيمية الفعلية التي توافق العوامل البيئية التي تنمو عليها الخلية . ومن ضمن العوامل (أ) التركيب الكيماوي للبيئة ، (ب) العوامل الفيزيوكيميائية السائدة أثناء النمو (ج) عمر المزرعة البكتيرية .

### (١) التركيب الكيماوي للبيئة

درس كارستروم Karstrom (١٩٤٣) تأثير هذا العامل على تكوين الأنزيمات البكتيرية بالتفصيل ووجد أن قدرة الخلية على تخمير بعض السكريات المعينة تكتسب دائماً إذا سبق وتم النمو في وجود هذه السكريات . ويبين جدول رقم ١٨ الاختلافات في القدرة التخمرية للبكتيريا *Betacoccus arabinosaceus* باختلاف طبيعة السكر الموجود أثناء النمو .

من الملاحظ من الجدول أن البكتيريا تخمر الجلوكوز والسكروروز سواء تواجدت هذه السكريات في البيئة أثناء النمو أم لا ولكن يحدث فقط أن يتخمر كل من الجالاكتوز والمالتوز واللاكتوز والأرابينوز إذا تواجدت كل من هذه السكريات على الترتيب بيئة النمو ، وقد لوحظ أيضاً قدرة الخلايا على تخمير الجلوكوز إذا سبق ونمت في وجود اللاكتوز حيث أن النمو في وجود السكر الأخير يسمح بتحليل جزئياته إلى جالاكتوز وجلوكوز

جدول ١٨ : علاقة الصفات التخمرية بطبيعة السكر الموجود بالبيئة أثناء

نمو البكتيريا *Betacoccus arabinosaceus*

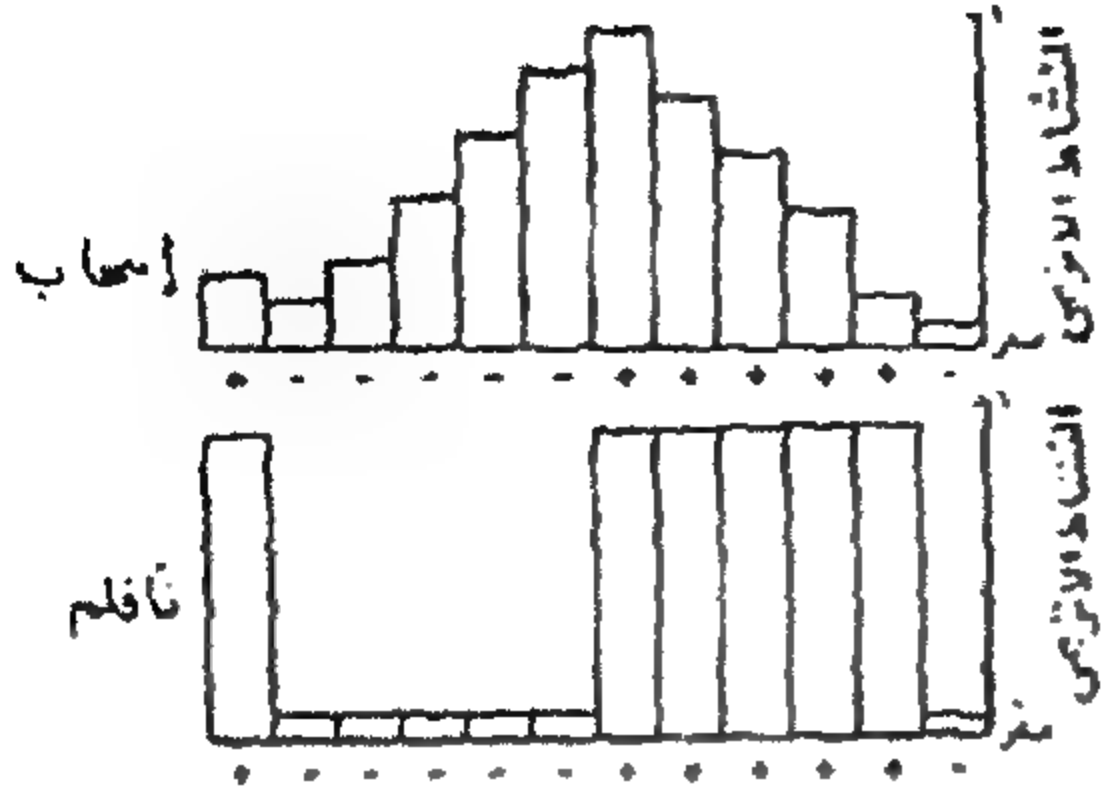
السكر المضاف للبيئة أثناء النمو	قدرة الخلايا الناتجة على تخمير السكريات التالية					
	جلوكوز	جالاكتوز	سكروز	مالتوز	لاكتوز	أرابينوز
بدون سكريات	+	-	+	-	-	-
جلوكوز....	+	-	+	-	-	-
جالاكتوز....	+	+	+	-	-	-
سكروز....	+	-	+	-	-	-
مالتوز....	+	-	+	+	-	-
لاكتوز....	+	+	+	-	+	-
أرابينوز....	+	-	+	-	-	-

( - ) لا يحدث تخمر

( - ) يحدث تخمر

وقد دعا هذا ، كارستروم إلى تقسيم الأنزيمات البكتيرية إلى إنزيمات تطوعية adaptive وأخرى أصلية constitutive . فالنوع الأول من الأنزيمات كما سبق أن بينا يتكون فقط في وجود مادة تفاعلها التخصصية بمعنى أنها لا تتكون إلا حسب الحاجة . أما النوع الثاني وهو الانزيمات الأصلية فهي تلك التي تتكون في الخلايا سواء وجدت مادة تفاعلها أو لم توجد بيئة النمو

والأنزيمات التأقلمية أو التطوعية تتكون بسرعة في الخلايا بمعنى أنه إذا أمكن لكائن بكتيري أن يخمر سكر الجالاكتوز تطبيعياً ( أى يصبح ذو قدرة على تكوين الأنزيم galactozymase ) فيكفى تنمية هذه البكتيريا مرة واحدة في وجود هذا السكر لكي تصبح قادرة على تكوين هذا الأنزيم . كما أن زرع البكتيريا مرة أخرى في غياب هذا السكر يكفي أيضاً لضياح هذه القدرة . والفرق بين عملية التطبع وعملية الانتخاب التطوري يتمثل في سرعة



شكل ٩٩ : رسم تخطيطي يبين الفرق بين عمليتي التأقلم والانتخاب في تكوين الإنزيمات (+ = وجود مادة التفاعل ، - = غياب مادة التفاعل أثناء النمو) .

تكون الأنزيمات الطبيعية وسرعة ضياع مفعولها كما هو مبين في شكل ٩٩

وأحيانا يكون لوجود بعض المواد الأخرى ( غير مادة التفاعل ) تأثير على درجة تكوين الأنزيم التأقلمي فمثلا قد يكون لوجود الجلوكوز بالبيئة تأثير على تكوين الأنزيمات المحللة للبروتينات والأحماض الأمينية فعادة

يقل نشاط الأنزيم alanine deaminase بدرجة كبيرة بحيث يصبح  $\frac{1}{4}$  من نشاطه الفعلي في غياب الجلوكوز . ولا يعرف الآن أى تفسير لتأثير الجلوكوز المقلل للنشاط الأنزيمي ، غير أن الأحماض العضوية التي تتكون نتيجة لتخميره قد تخفض قيمة pH ، البيئة ولكن في بعض الحالات ثبت أن هذا ليس هو الواقع . وتعليل آخر لهذه الظاهرة يتلخص في أن وجود الجلوكوز أثناء النمو له قدرة على توفير البروتينات ( protein sparing action ) ، بمعنى أنه يمنع من تحليل البروتينات للحصول على الطاقة اللازمة للخلايا وقد وجد أن الجلوكوز ليس له تأثير على نشاط إنزيمات ( deaminases ) ، في الخلايا المغسولة وهذا يعني أن الجلوكوز لا يؤثر على الأنزيمات التي تكون قد تكونت فعلا بالخلية إلا أن تأثيره يحدث في منع تكوين إنزيمات جديدة ، ويجب أن لا نفهم من ذلك أن وجود الكربوهيدرات القابلة للتخمر في البيئة يمنع دائماً تكوين الأنزيمات . وعموماً يمكن تلمخيص وجود مثل هذه المواد على تكوين الأنزيمات فيما يلي :

(أ) تكوين أحماض وحدوث تغيير في قيمة pH البيئة .

(ب) تكوين غازات محدثة ظروفاً غير هوائية بالبيئة .

(ج) تزيد محصول الخلايا بالزراعة .

(د) المساعدة في تكوين عديدات التسكر داخل الخلايا النامية .

(ب) العوامل الفيزيو كيميائية : physiochemical faetis

أولاً — التهوية : إن البكتيرياات غير الهوائية اختياراً يمكنها أن تنمو تحت ظروف هوائية وغير هوائية كما يمكنها أن تكون كل محتوياتها الأنزيمية تحت مثل هذه الظروف . وعندما نختبر نشاط كل انزيم بمفرده فأننا نجد أن تلك التي تعمل في الظروف الهوائية فقط تتكون بالخلايا عندما تنمو هذه تحت ظروف هوائية وأنها لا تتكون إذا حدث النمو في ظروف غير هوائية والعكس صحيح فيما يختص بالأنزيمات التي تعمل في ظروف غير هوائية . فمثلاً تتكون بخلايا البكتيريا *E. coli* انزيمات مزيله للمجاميع الأمينية من النوع التأكسدي oxidative بدرجة أكبر ( ٥ — ٦ مرات ) في الظروف الهوائية عنها في الظروف غير الهوائية .

ثانياً — درجة pH البيئة : سبق أن ناقشنا تأثير قيمة pH البيئة على نمو البكتيريا . ويهمننا هنا معرفة تأثير هذا العامل على تكوين الأنزيمات البكتيرية فالأنزيمات التي تتكون بالبكتيريا *E. coli* ، التي يمكنها أن تنمو في مجال من الـ pH يقع بين ٢ ، ٤ — ٥ ، ٩ تعتمد كثيراً على قيمة pH البيئة في وقت تكون الخلايا . ويختلف تأثير قيمة pH البيئة على تكوين الانزيمات باختلاف نوع الأنزيم .

وتتكون الأنزيمات البكتيرية تبعاً لدرجة pH البيئة بثلاث طرق مختلفة :

١ — طرق تعادلية : Neutralization mechanism

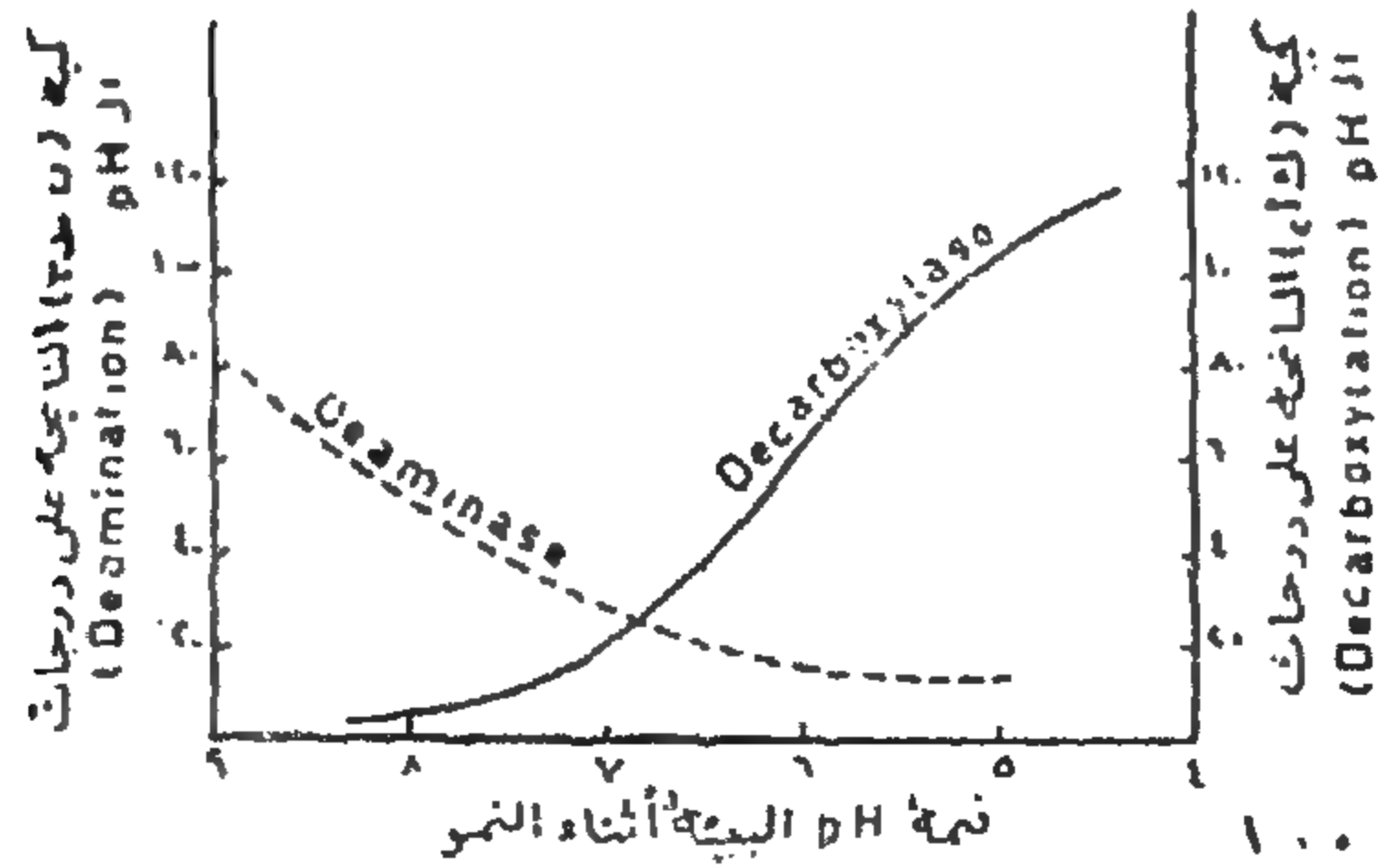
يمكن للبكتيريا التي تنمو في مجال متسع من الـ pH انتاج انزيمات ينتج عن تفاعلاتها مواد تعادل الحموضة أو القلوية الزائدة بالبيئة . فالنمو في بيئة حمضية يشجع تكوين انزيمات تساعد في تفاعلات ينتج عنها مواد قلوية ، ويمتنع في هذه الظروف تكون الأنزيمات الأخرى التي تساعد في التفاعلات



التي ينتج عنها مواد حمضية التأثير . فمثلا ، إذا نمت البكتيريا *E. coli* في بيئة حمضية التأثير تحتوي على أحماض أمينية فهي تهاجم هذه الأحماض الأمينية عن طريق عملية decarboxylation مؤدية إلى فصل ك<sup>+</sup> وتكوين الأمينات المقابلة القلوية التأثير . أما إذا نمت البكتيريا في بيئة قلوية فان انزيمات decarboxylases تقف عن التكون وبدلا منها تتكون انزيمات deaminases تهاجم الأحماض الأمينية فاصلة منها مجاميع الأمين في صورة نشادر ومؤدية إلى تكوين الأحماض الكيتونية الحمضية التأثير .

وهناك كائنات أخرى تكون انزيمات تساعد على تحول أحماض البيئة إلى مواد متعادلة ، عندما تنمو في بيئات حمضية . فالبكتيريا *C. acetobutylicum* مثلا تختزل حمض البيوتيريك إلى كحول بيوتاييل والبكتيريا *Aerobacter aerogenes* والتي تختزل حمض البيروفيك إلى مركب متعادل هو الأسيتيل ميثيل كاربينول .

وفي كل هذه الحالات فان كمية الأنزيم المتكون بداخل الخلايا على الدرجات المختلفة من الـ pH تبين أن هناك علاقة بين حدوث التفاعلات التعادلية وقيمة pH البيئية . ويبين ( شكل ١٠٠ ) هذه العلاقة في حالة الأنزيمات المحللة للحمض الأميني جلوتاميك .

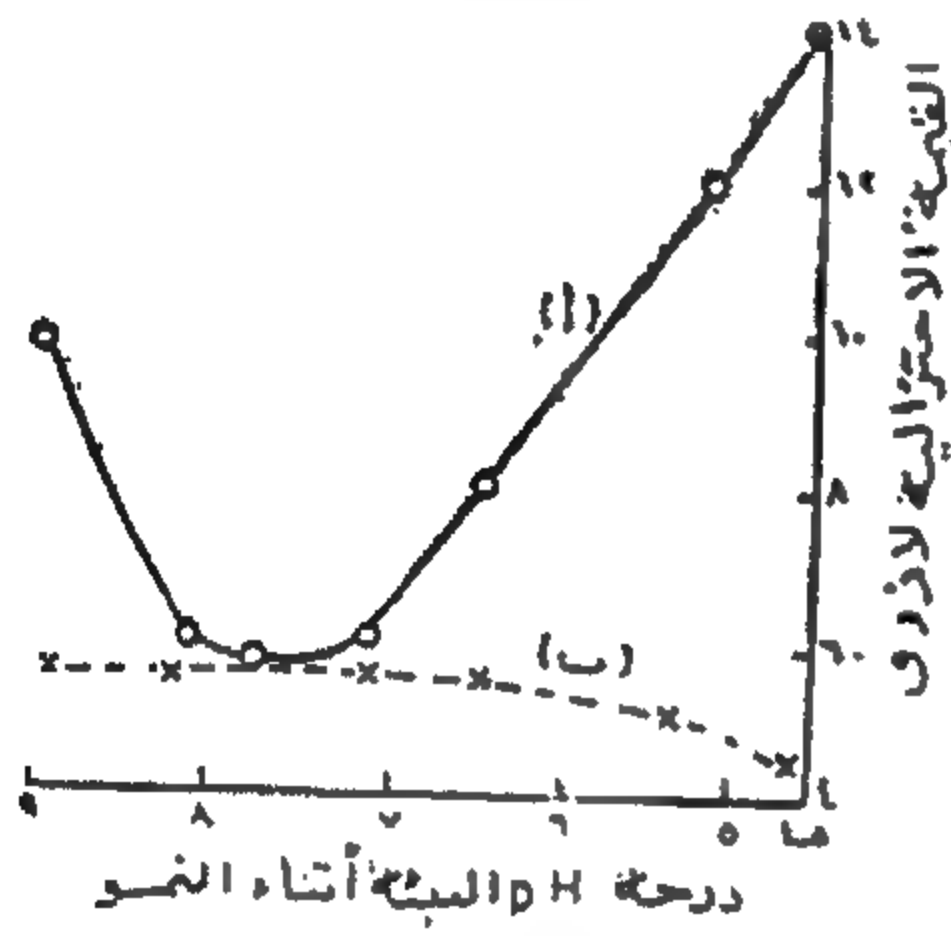


شكل ١٠٠ : الاختلافات في تكوين انزيمات glutamic decarboxylase و glutamic dehydrogenases في البكتيريا *E. coli* باختلاف pH البيئية أثناء النمو .

## ٢ — طريقة وقائية : protective mechanism

ان وظيفة بعض الأنزيمات مثل انزيم الكاتاليز هو تحويل المواد الأيضية السامة التي لو تركت تتكدس بالخلايا تؤدي إلى تسممها .

ومن المعروف أن لكل انزيم قيمة pH مثالية يكون نشاطه عليها أكبر ما يمكن وأن pH البيئة يتغير بحيث يبتعد عن قيمة الـ pH المثالية لنشاط الأنزيم فيقل بذلك نشاط كل وحدة انزيمية . ففي حالة انزيم الكاتاليز والذي له



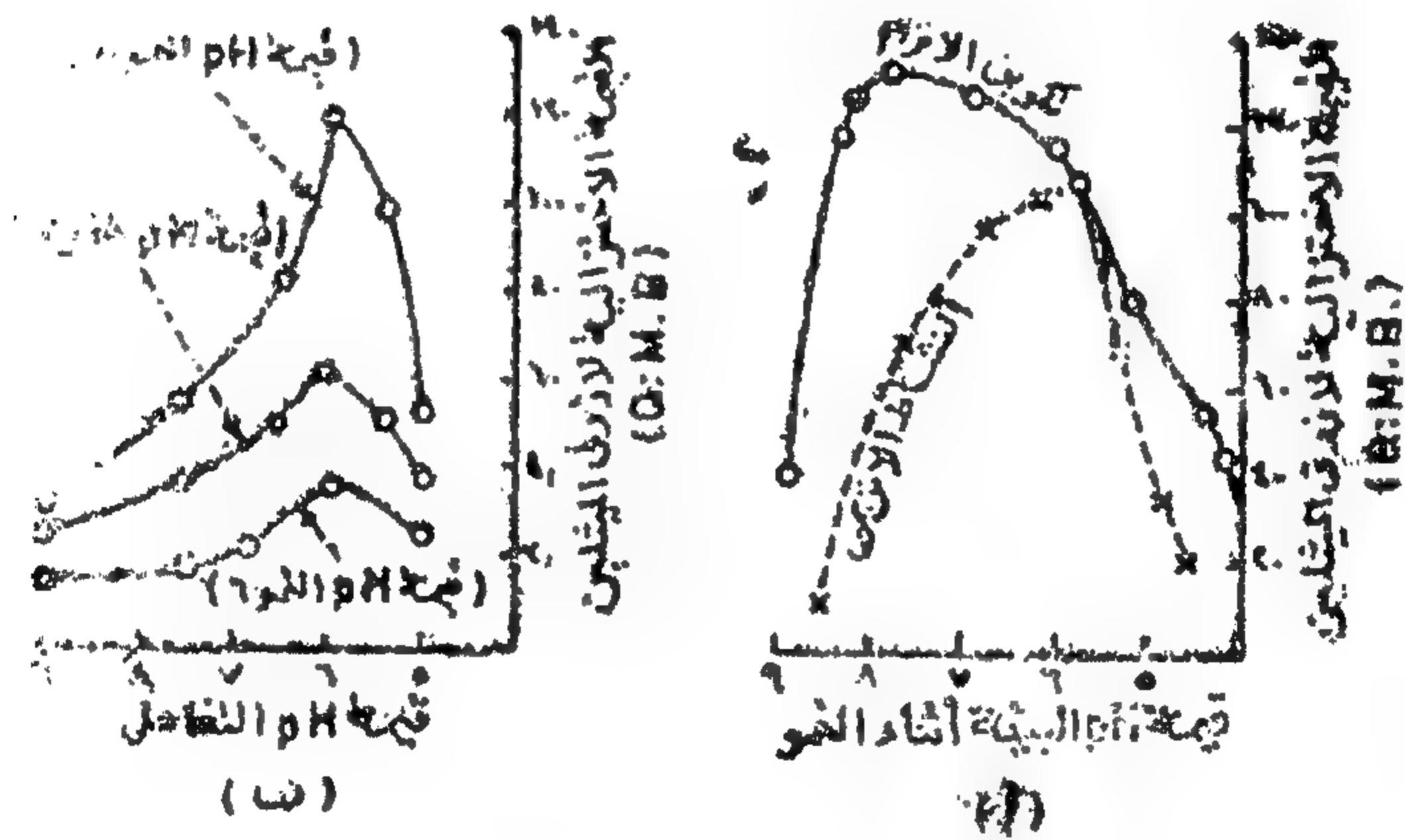
درجة مثالية من الـ  $pH = 6.5$  ، فإن وحدات هذا الأنزيم تكون أقل نشاطاً عندما يتم النمو على درجة  $pH = 9$  عنه في حالة  $pH = 6.5$  ، ففي هذه الأحوال تعوض الخلية النقص في نشاط وحدة الأنزيم بإنتاج وحدات أنزيمية كثيرة حتى يكون النشاط الفعلي للأنزيم ثابتاً بالخلية حتى على درجات الـ  $pH$  غير المثالية ( النشاط الفعلي = عدد وحدات الأنزيم × نشاط كل وحدة ) ، والأنزيمات التي يتأثر تكوينها بقيمة  $pH$  البيئة عن هذا الطريق تشمل اليورياز urease والكاتاليز catalase وكل من

شكل ١٠١ : الاختلافات في نشاط الأنزيم alcohol dehydrogenase في البكتيريا *E. coli* باختلاف قيمة  $pH$  البيئة أثناء النمو . (أ) النشاط الكامن للأنزيم potential activity ، (ب) النشاط الفعلي للأنزيم effective activity . يلاحظ ثبات هذا النشاط على درجات الـ  $pH$  المختلفة .

formic dehydrogenase ، alcohol dehydrogenase وهي إنزيمات ذات مواد تفاعل سامة للخلايا . ويبين ( شكل ١٠١ ) الاختلافات

في تكوين أنزيم alcohol dehydrogenase في البكتيريا *E. coli* على الدرجات المختلفة من الـ  $pH$  . والنشاط الكامن potential activity للأنزيم هو ذلك النشاط الذي يقدر على درجات الـ  $pH$  المثالية « ٨ » ويمثل درجة التكوين الكلي للأنزيم داخل الخلية . أما النشاط الفعال effective activity فهو ذلك النشاط الذي يقدر على درجة الـ  $pH$  الذي كانت الخلايا نامية عليها قبل القيام بالتقدير .

ثالثاً — هناك مجموعة من الأنزيمات تتكون بالخلايا البكتيرية بكمية كبيرة عندما يتم النمو على درجة من الـ pH تقارب تلك المثالية لنشاطها . وعلى حد معلومتنا فإنه ليس هناك انزيم بكتيري واحد لا يتأثر تكوينه بدرجة الـ pH البيئة أثناء نمو الخلايا . والا نزيما التي تتبع هذه المجموعة لها وظائف غير إجراء التعادل أو الوقاية فهي تتكون بدرجة ملحوظة في نطاق محدود من قيمة الـ pH على جانبي درجة الـ pH المثالية لنشاطها . وفي هذه الحالة لا يشترط أن تكون قيمة الـ pH التي تتكون عندها أكبر كمية من الأنزيم هي نفس الدرجة المثالية للنشاط الأنزيمي كما يظهر ذلك واضحاً من المثال الخاص بالانزيمات hydrogenases بالبكتيريا *E.coli* والمبين بشكل ١٠٢.



شكل ١٠٢ : أ - الاختلافات في نشاط الانزيم hydrogenase في البكتيريا *E. coli* على درجات مختلفة من pH البيئة أثناء النمو .  
ب - الاختلافات في نشاط الانزيم باختلاف قيمة pH الاختبار .

من الملاحظ في ( شكل ١٠٢ - أ ) أن درجة الـ pH المثالية لنشاط الأنزيم هي « ٦ » ، في حين أن الدرجة اللازمة لتكوين أقصى كمية من الأنزيم هي « ٨ » . وبتقدير قيمة النشاط الفعال للأنزيم على درجتى pH النمو « ٦ و ٨ » يتبين أن أكبر كمية من وحدات الأنزيم والتي تتكون في هذا

النطاق ( ٦ — ٨ ) تعوض النقص في نشاط الوحدات الأنزيمية الذي يحدث في حدود هذا النطاق من pH أيضاً . ونتيجة لذلك فإن النشاط الفعال للأنزيم يكون ثابتاً تقريباً في منتصف منحني النمو ولكنه ينحدر بسرعة خارج هذه الحدود . وفي خارج هذه الحدود تقل عملية التعويض في قلة النشاط بتكوين وحدات إنزيمية التي تتبع هذه المجموعة إنزيمات tryptophanase و hydrogenases و succinic dehydrogenase و glucozymase .

### درجة حرارة النمو :

إن درجة الحرارة المثالية للنمو لا تعني أنها هي نفس الدرجة المثالية للتحويلات الأيضية البكتيرية . ففي الحقيقة لا يمكن لكائنات التربة أن تنمو على درجة حرارة ٣٧° م والتي توافق نمو الطفيليات الحيوانية . وقد أجريت عدة دراسات على تأثير درجة الحرارة على تكوين الأنزيمات فوجد أن كثير من الأنزيمات مثل amino acid decarboxylases تتكون بالبكتيريا *E. coli* بدرجة كبيرة على درجة حرارة ٢٠° م وليس على درجة ٣٧° م ( الدرجة المثالية لنمو *E. coli* ) . وقد بين كثير من العلماء أن تخليق البروتينات الخلوية يتم بدرجة أكبر على الدرجات المنخفضة نسبياً من الحرارة

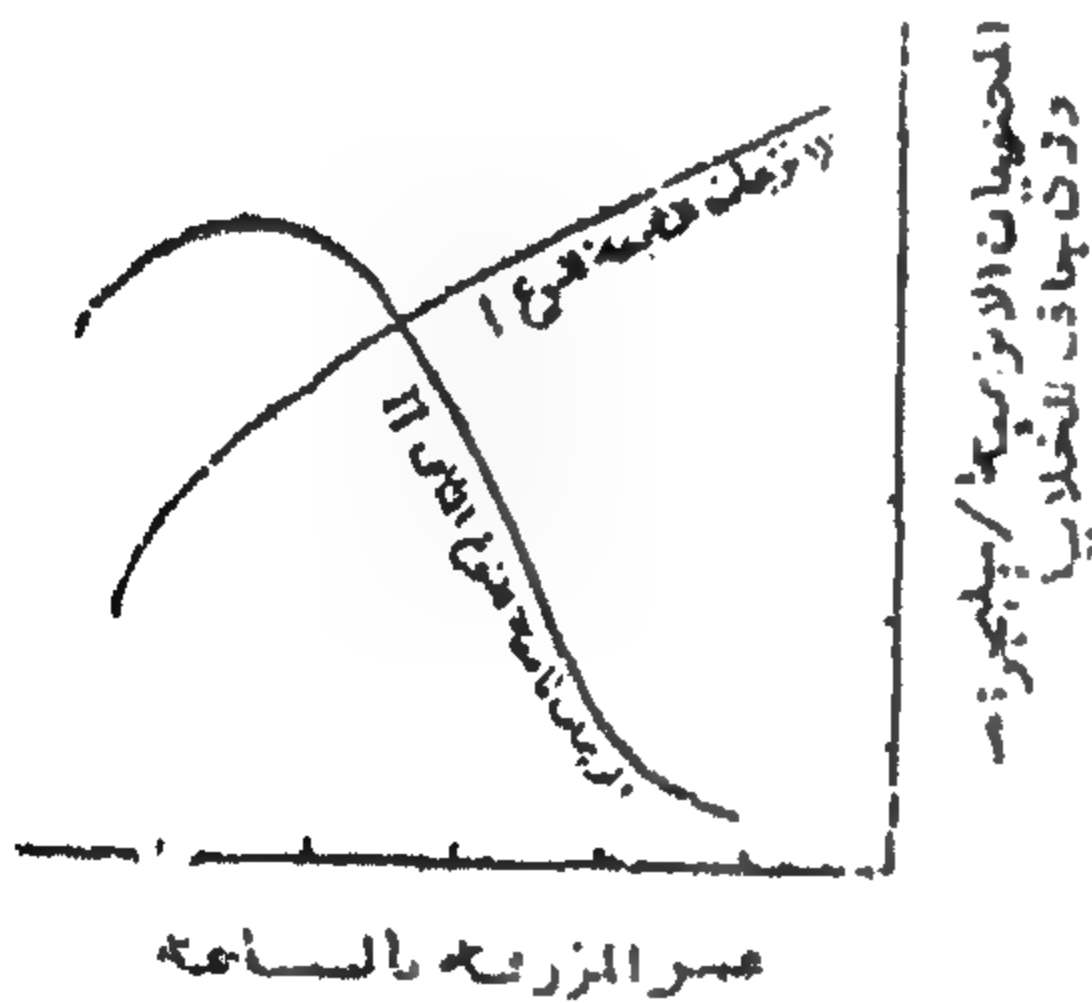
### عمر المزرعة :

سبق أن ذكرنا أن النشاط الانزيمي للخلايا يزداد وهي في أطوارها الأولى من النمو . وحيث أن الخلايا تكون أكبر حجماً أثناء هذه الأطوار عنها في أطوار النمو المتأخرة فهذا يعني أنها تحتوي على كمية أكبر من البروتوبلازم وبالتالي تحتوي على كمية أكبر من الأنزيمات . ويمكننا تتبع تكوين الأنزيمات بالخلايا إذا ما تتبعنا الزيادة في المحتويات الخلوية ، وليس عن طريق تقدير عدد الخلايا ، وقد سبق أن ذكرنا أنه يمكن قياس الكتلة الخلوية بجملة طرق وهذه تكون دائماً متلازمة مع النشاط الأنزيمي الخلوي . ومن هذه التقديرات أمكن

النتعرف على اختلاف المحتويات الأنزيمية باختلاف عمر الخلايا . وحيث أن الظروف الفيزيائية والكيميائية تتغير أثناء نمو الخلايا البكتيرية في المزرعة نتيجة للنشاط الخلوي الأيضي : من ذلك يمكننا أن نتفهم لماذا يتأثر التكوين الأنزيمي في مراحل النمو المختلفة . فإذا ما قدرت المحتويات الأنزيمية لمزرعة بكتيرية على أساس الوزن الجاف للخلايا (وحدات انزيمية / مليجرام واحد من الوزن الجاف) فإننا نجد نوعين من الاختلافات في المحتويات الأنزيمية نتيجة لعمر المزرعة :

١ — تكون الخلايا ذات نشاط إنزيمي مرتفع في الفترات الأولى من النمو (شكل ١٠٣-١) ثم يتناقض هذا النشاط باستمرار النمو ثم ينخفض فجأة بعد حدوث الانقسام الخلوي .

٢ — تكون المزارع في الفترات الأولى من النمو أقل نشاطاً إنزيمياً وأحياناً معدومة النشاط الإنزيمي . ثم يزداد النشاط تدريجياً حتى يصل قمته عندما



شكل ١٠٣ : اختلاف المحتويات الأنزيمية للخلايا بالبكتيريا *E. coli* باختلاف عمر المزرعة (١) مجموعة انزيمات البناء (II) مجموعة الانزيمات المرتبطة بعملية الهدم .

تتوقف الخلايا عن الانقسام . وعند نهاية النمو ينخفض النشاط الأنزيمي كلية نتيجة لموت الخلايا أو أكسدة أو هضم البروتين الإنزيمي . ومعظم الأنزيمات البكتيرية التي درست إلى الآن تظهر اختلافات مثل تلك المبينة بالمجموعة الثانية (شكل ١٠٣-II) باختلاف عمر المزرعة . ومن هذه الأنزيمات :

deaminases و decarboxylases و proteases و dehydrogenases

والتي تختص بهدم مواد تفاعلها وإطلاق كربون أو نيتروجين أو طاقة ويبدو أن هذه الأنزيمات (أو الأنزيمات التابعة لهذه المجموعة) ليست مرتبطة بعمليات



البناء أو التخليق . وهذا يعنى احتمال أن الانزيمات التى تتأثر بهذه الكيفية تبعاً لعمر المزرعة هى تلك الخاصة بالعمليات الهدمية أو الوقائية فإذا كانت الاختلافات فى المحتويات الأنزيمية الهدمية تتبع النظام المبين (بشكل ١٠٣ - 11) تبعاً لعمر المزرعة ، فيمكننا أن نفترض أن تلك الانزيمات البنائية anabolic enzymes تختلف باختلاف عمر المزرعة بالطريقة المبينة (شكل ١٠٣ - 1) والمعلومات الحالية لازالت قاصرة عن إثبات هذا التعميم . ففى البكتيريا Streptococci نلاحظ اختلافات فى المحتويات الأنزيمية تتبع كل من النظامين 11 ، 1 تبعاً لعمر المزرعة ، حيث تتبع الانزيمات المسؤولة عن تخمر الجلوكوز تتبع النظام رقم 1 وأنزيمات decarboxylases تتبع النظام رقم 11 .

وعندما يتأثر تكوين الانزيمات الخلوية بدرجة pH البيئة فإن الاختلافات الناتجة يمكن تغييرها فى هذه الحالة بإضافة السكريات القابلة للتخمر . بمعنى أنه إذا كانت درجة تكون نظاماً انزيمياً معيناً بالخلية تصل إلى أقصاها عندما تكون قيمة الـ pH البيئة مقاربة لتلك الخاصة بأقصى نشاطه ، فيمكن إذن الحصول على منحنى مثل ذلك المبين (بشكل ١٠٣ - II) تبعاً لتغير عمر المزرعة ولكننا نجد أن نشاط هذا الأنزيم يتناقص فيما بعد قرب نهاية دورة النمو حيث يصبح تفاعل البيئة مائلاً إلى الحموضة نتيجة لوجود السكريات المتخمرة .

ومثل هذه التغيرات هامة جداً فى دراسة التحولات الأيضية البكتيرية فمثلاً نجد أن الميكروب *Cl. acetobutylicum* والذى يحتوى على انزيم hydrogenase و acetoacetic decarboxylase فإن كلا النظامين يظهران اختلافات تتماشى مع المنحنى رقم II (شكل ١٠٣) عند تغير عمر المزرعة فإذا ما درسنا نشاط كل من هذه الأنزيمات باستعمال معلقات الخلايا المغسولة المتحصل عليها فى فترات مختلفة أثناء النمو يمكننا أن نلاحظ ما يأتى :

(١) الخلايا المتحصل عليها فى أوائل فترات النمو لا تظهر نشاطاً لآى من الأنزيمين .

(ب) الخلايا المتحصل عليها أثناء طور النمو اللوغاريتمى تبدى نشاطاً ملحوظاً لأنزيم dehydrogenase فقط .

(ج) الخلايا المتحصل عليها فى الفترات الأخيرة من النمو عندما يبدأ توقف الانقسام تمتلك نشاطاً مرتفعاً لأنزيمات decarboxylases بينما ينعدم بها نشاط dehydrogenase .

وهذه الاختلافات فى أوقات تكوين الأنزيمات يمكن ربطها بالحقيقة المعروفة أن الدرجة من الـ pH المثالية لنشاط hydrogenase هى «٨» وحين أن تلك الخاصة بالـ decarboxylase يصل إلى «٥» وأن pH البيئة ينخفض من ٧ - ٥,٥ أثناء النمو .

والاختلافات فى المحتويات الأنزيمية الخلوية تقتضى إختلافات فى تركيب البروتينات وهذا يرجع إلى درجة تنظيم الأحماض الأمينية داخل الجزيء البروتينى من الانزيم بدرجة أكبر من نسبة هذه الأحماض الأمينية إلى بعضها فى ذلك الجزيء . وقد أمكن التعرف على الاختلاف فى المحتويات الخلوية باستعمال الأشعة فوق البنفسجية u . v. spectroscopy وتقدير قدرة الخلايا على امتصاصها فى أطوار نموها المختلفة . وأمكن التعرف على تغيرات رئيسية داخل الخلايا أثناء النمو . فلما هو معروف عن أن المواد المحتوية على البيورينات purines والـ «بايريميدينات» pyrimidines مثل nucleotides أو الأحماض النووية تمتص هذه الأشعة (ذات موجة طولها ٢٦٥ ميللى ميكرون) بدرجة كبيرة فقد وجد أن محتويات الخلايا من هذه المواد تختلف باختلاف عمر الخلايا حيث أن الخلايا الكبيرة فى السن تكون غنية بها كما سبق أن ذكرنا .

- ٢٩٢ -

## المراجع

Gale, E. F . 1952 The chemical activities of bacteria. Academic press  
N. Y. University Tutorial Press Ltd . London .

Gale, E. F. 1943 . Factor influencing the enzyme activities of bacteria.  
Bacteriol. 7 : 139.

Karstrom, H 1938. Enzymatische adaptation bei microorganismen.  
Ergebnisse de Enzym forschung, 7 : 340.

Sumner, J. B. and K. Myrback, 1952. The enzymes. Academic Press,  
New York.

## الفصل الثانى

### تفاعلات إزالة الأيدروجين - والتنفس

#### Dehydrogenation and Respiration

تبين لنا عند مناقشة الأنزيمات البكتيرية ان الخلايا تقوم بعمليات كيميائية معقدة بمساعدة الانزيمات . وذكرنا أن الخلايا تستفيد من الطاقة التي تنشأ عن هذه التفاعلات في أغراضها الحيوية المختلفة. وهناك مجموعة معينة من التفاعلات تحدث بصفة عامة في كل الخلايا الحية والتي تستحق المناقشة في فصل مستقل من هذا الباب .

وهذه التفاعلات تشترك في إزالة الأيدروجين من عديد من المواد وتحوله إلى ماء . والماء كما هو معروف هو ذلك السائل الذى تركز عليه الحياة والذى جعل الله سبحانه وتعالى منه كل شيء حى ، يستحق أيضاً اهتمامنا لما له من الأهمية في هذه التفاعلات . فالأيدروجين المرتبط بكثير من المواد وكذلك الأيدروجين الغازى يمكنه أن يتأكسد متحولاً إلى ماء ، وهذا التفاعل يستمر حيث تنطلق عنه طاقة تستغلها الكائنات الحية باستمرار طالما كانت على قيد الحياة . وقد كان علماء الفسيولوجيا القدامى على حق في قولهم أن الحياة تدور على هرب من الأيدروجين .

ويطلق على عملية «احتراق» الأيدروجين هذه وتحوله إلى ماء اسم عملية التأكسد oxidation وهى فعلاً عملية أكسدة ولكن الأكسجين في حد ذاته يكون ذو أهمية ثانوية في العملية . ويشار إلى هذه العملية أحياناً بأنها عملية إزالة ايدروجين dehydrogenation وأحياناً أخرى بأنها عملية أكسدة oxidation فعملية إزالة الايدروجين dehydrogenation تعنى إما إزالة الايدروجين (٢يد) كما يبدو من مداول تسميتها أو إزالة ايدروجين على صورة ايونية (يد+) علاوة على الالكترونات وهذا بدوره يعنى عملية أكسدة.

وحيث أن المادة التي فصل منها الايدروجين تقل محتوياتها من الايدروجين وبالتالي سوف تزداد محتوياتها النسبية من الأكسجين عما كانت عليه من قبل فيقال أنها تأكسدت .

من ذلك نرى و كما سبق أن بينا أن الأكسدة تعنى الأكسجين أو فقد للايدروجين أو فقد للالكترونات كما يتبين أن التسميات المختلفة والمتعددة لهذه العملية يمكنها أن تحدث ارتباك في تفهمها .

نعود مرة ثانية إلى العملية الأساسية وهي تحول الأيدروجين إلى ماء والذي يعتبر الناتج النهائي للتفاعل ، فقد أمكن تحويل الأيدروجين الغازي إلى ماء بالمعمل بحرقه في وجود الأكسجين ، كما أمكن قياس وتقدير كمية الطاقة التي تنتج عند تكون جزيء واحد من الماء . ويمكن أيضاً للايدروجين أن يتحول إلى مركبات عضوية أخرى وهذا التحول أيضاً ينطلق عنه طاقة ولكن بكمية أقل من تلك التي تنتج عند تكوين الماء . هذا والأيدروجين المرتبط بالمواد العضوية يمكن تحوله هو الآخر إلى ماء وينتج عن ذلك طاقة إلا أنها تكون أقل بكثير من تلك الناتجة عند تكوين ماء أو نتيجة لتفاعل الايدروجين الغازي والايدروجين المرتبط بالمواد العضوية قد ينتقل أيضاً من مركب عضوي إلى آخر وهذا الانتقال قد يسفر عنه هو الآخر إنتاج طاقة .

فعندما يكون الأيدروجين مرتبطاً بالمواد العضوية يطلق على العملية اسم dehydrogenation . ولما كان الهدف النهائي هو تحويل الايدروجين إلى ماء فإن كل ما يمكن انطلاقه من طاقة يتكون بمجرد تكون الماء ولا يشترط أن ينتقل الايدروجين كل هذه الانتقالات دفعة واحدة ليكون ماء أو لاطلاق الطاقة ، فقد يستمر في انتقاله لمسافة قصيرة وينطلق عن ذلك بعض الطاقة ، وربما ينتقل فيما بعد مسافة أخرى ثم أخرى إلى أن يتكون الماء . ولما كان الايدروجين المرتبط عضوياً يمكن تحوله من صورة عضوية إلى أخرى تكون قريبة إلى حد ما لطريقة ارتباطه في جزيئات الماء فإنه يمكن أن تنطلق طاقة



أيضاً نتيجة لهذه العملية dehydrogenation بالرغم من عدم تكون الماء. ومثل هذه التفاعلات تتطلب وجود مادة عضوية يمكنها أن تعطى ايدروجينها المرتبط hydrogen donor إلى مادة عضوية أخرى تعتبر مستقبلية للايدروجين hydrogen acceptor وعن هذا الطريق يمكننا أن نتفهم كيفية استمرار الحياة لبعض الكائنات بالرغم من غياب الأكسجين .

### التنفس كوسيلة للوصول الى الأكسجين الغازى :

كثير من الكائنات الحية يكون مجهزةً بالنظم الأنزيمية التي ينتقل عن طريقها الايدروجين ويوصل إلى الأكسجين الغازى . وفى هذه العملية والتي يطلق عليها عملية التنفس فإن الأكسجين الغازى يعمل إذن كمستقبل وحيد للايدروجين . وهناك تعريفان لعملية التنفس هذه : الأول كما سبق أن بينا ينص على أن وظيفة الأكسجين هي استقبال الايدروجين وأن هذا التفاعل ينطلق عنه طاقة فى صورة صالحة للخلايا . والتعريف الثانى ينص على أن أى تفاعل ينطلق عنه طاقة بالخلية يعتبر عملية تنفس سواء تم ذلك فى ظروف : هوائية أم غير هوائية . وسوف نركز دراستنا هنا لعملية التنفس البكتيرى على التعريف الأول لما قد يسببه التعريف الثانى من تعقيدات نتيجة لوجود بعض التسميات المتعددة والمتداولة كالتنفس الهوائى أو التنفس غير الهوائى . وبالرغم من أن عملية انتقال الايدروجين إلى الأكسجين لا تختلف فى المبدأ الأساسى عن انتقاله إلى المواد الأخرى القابلة للاختزال إلا أن الاختلاف فى ميكانيكية الانتقال فى كلتا العمليتين تفى بأن تميز عملية التنفس فى حد ذاتها .

وسوف نتناول بالمناقشة فيما يلى الطرق المختلفة للوصول إلى الأكسجين. من المعروف أن الخلية تحتوى على عديد من الأنزيمات القادرة على إزالة الايدروجين على صورة (٢يد) من مواد تكون محتوية عليه ، إلا أن الايدروجين المنفصل لا يتفاعل مع جزيئات الأكسجين الغازى المتواجد بالجو المحيط مباشرة بل يتطلب وجود مجموعة من الأنزيمات الأخرى ومرافقاتها الأنزيمية

تقوم بتوصيل الايدروجين (٢يد) إلى الأكسجين الغازى (١٢). ويعرف لذلك ثلاث طرق رئيسية وهى كما يلى :

( ١ ) طريق الأكسدة المباشرة : Direct oxidation

هناك مجموعة من الأنزيمات المزيلة للايدروجين dehydrogenases تتواجد بكثرة فى الأنسجة الحيوانية وخلايا الخميرة يطلق عليها انزيمات الأكسدة ، مثل D or L-amino acid oxidases تكون ذات تركيب خاص يسمح بحدوث تفاعل بين الايدروجين المنفصل والأكسجين الغازى مباشرة . وعادة ينتج فوق أكسيد الايدروجين يد١٢ (بدلاً من الماء) نتيجة لحدوث مثل هذا التفاعل كما أن قدرة الخلايا على استعمال الطاقة الناتجة عن مثل هذه التفاعلات لازالت من الأمور المشكوك فيها .

معظم الأنزيمات التى تقوم بعمليات الأكسدة المباشرة تحتوى على ريبوفلافين prosthetic group فى صورة مرتبطة بالبروتين الأنزيمى والقليل منها تحتوى على حديد أو نحاس . والتفاعل المبين (بشكل ١٠٤ - ١) يبين كيفية حدوث مثل هذه التفاعلات . وقد يتواجد هذا النظام فى بعض الكائنات دون الأخرى ويقال أن الميكروب *Proteus vulgaris* يحتوى على هذا النوع من الأنزيمات ولكن لايتكون (يد١٢) كنواتج تفاعل . وعموماً فإن فعل هذه الأنزيمات مقصوراً على بعض مواد التفاعل المعينة ولا تزال أهميتها من الناحية التنفسية للخلايا المحتوية عليها من الأمور المشكوك فيها بالرغم من أهميتها فى تجهيز بعض المركبات الوسطية التى قد تحتاجها الخلايا .

ومادة (يد١٢) التى تتكون تعتبر سامة جداً للخلايا الحية لذلك فتمتلك كثير من الكائنات انزيمات معينة يعرف باسم الكاتاليز catalase الذى يحتوى على مركب الهيماتين . يمكنه هدم (يد١٢) محولاً إياه إلى ماء مع إطلاق الأكسجين الغازى .

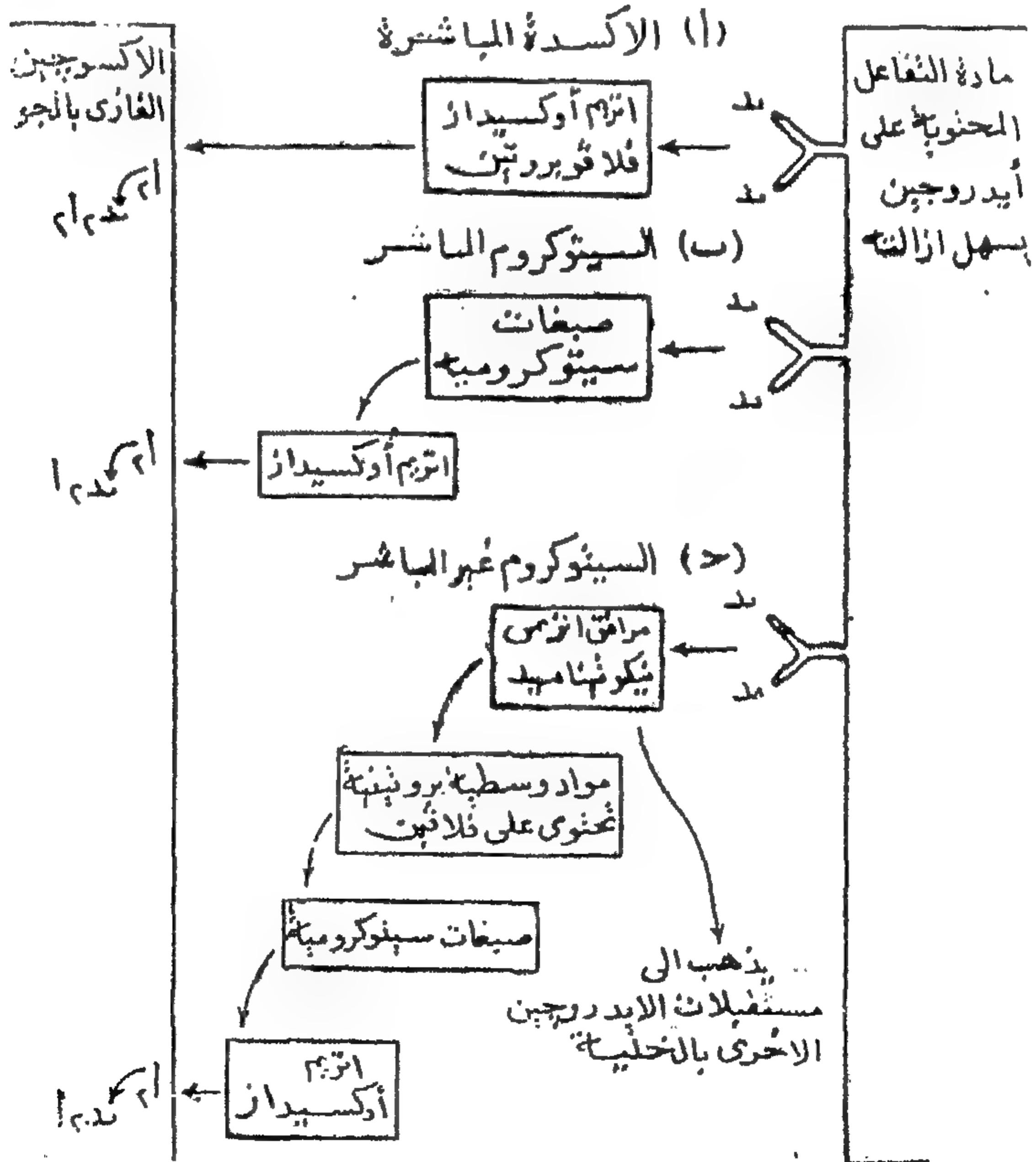
كائنات

٢ يد ٢ ا ————— ٢ يد ٢ ا

وقد وجد حديثاً أن هذا المركب (يد ٢ ا) يمكنه أن يعمل في أكسدة بعض المواد الخلوية حيث يزول تأثيره السام من الخلايا فقد وجد أن pneumococci يمكنها أن تحمي نفسها في وجود الهواء نتيجة لحدوث التفاعل بين (يد ٢ ا) وحمض البيروفيك بطريقة ماتخلص الخلايا تبعاً لهذا من تأثير (يد ٢ ا) السام.

(ب) طريق السيتوكروم المباشر : Direct cytochromes system

يوجد عدد قليل من انزيمات إزالة الأليدروجين مثل انزيم succinic dehydrogenase

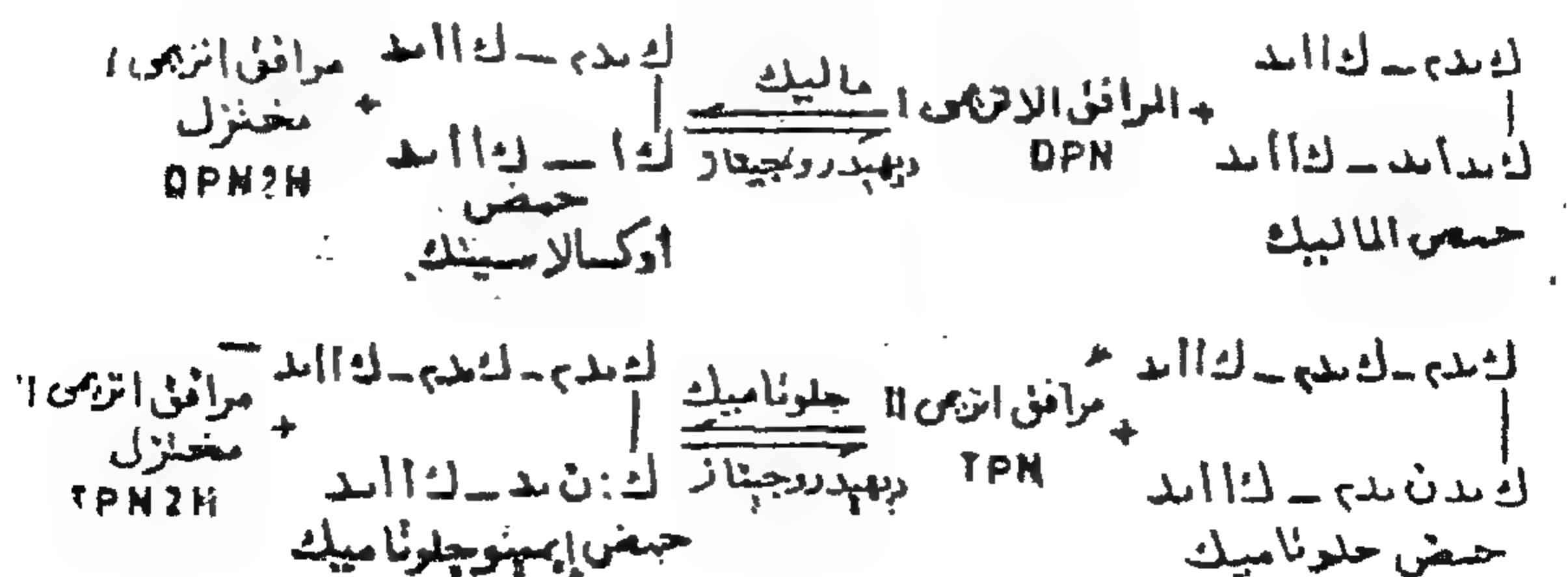


شكل ١٠٤ : الطرق الموصلة إلى الأكسجين الجوي .

يمكنها أن تختزل مجموعة من صبغات السيتوكروم مباشرة وهذه الصبغات المختزلة تتفاعل بدورها مع الأكسجين الغازي مكونة ماء. وهذا النوع من التفاعلات يمثل الطريق الوحيد للوصول إلى الأكسجين في بعض الخلايا إلا أن له أهمية محدودة من حيث إنتاج الطاقة إذا ما قورن بالطرق السيتوكرومية غير المباشرة. ويبين (شكل ١٠٤ ب) كيفية حدوث هذه التفاعلات كما سنذكر فيما بعد أهميتها الفسيولوجية.

(ج) طريق السيتوكروم غير المباشر : Indirect cytochrome system  
يعتبر هذا الطريق أهم طرق الوصول إلى الأكسجين من الناحية الكمية في إنتاج الطاقة فكثير من انزيمات إزالة الهيدروجين تختزل المرافقات الأنزيمية مثل (DPN أو TPN). وهذه المرافقات وهي في حالتها المختزلة لا يمكنها التفاعل مع الأكسجين الجزئي كما لا يمكنها التفاعل مع صبغات السيتوكروم. إلا أنها تكون قادرة على اختزال بعض البروتينات المحتوية على الفلافين flavine والتي تعرف باسم cytochrome reductase في حالة المرافق ، الأنزيمي ١ (DPN) أو باسم diaphorase في حالة المرافق الأنزيمي 11 (TPN). وهذه تكون قادرة على التفاعل مع صبغات السيتوكروم والتي تقوم بدورها إلى الوصول للأكسجين. وعمليات الأكسدة التي تتم عن هذا الطريق مبينة (بشكل ١٠٤ ج).

ومثل هذه الطرق التأكسدية تتواجد بالبكتيريا حيث أمكن الحصول على التفاعلات التالية بالاستعانة بمستخلصات خلايا البكتيريا *E. coli*



وبالاستعانة بالسموم التنفسية respiratory poisons مثل السيانيد أو أول أكسيد الكربون تبين أن الخطوة الأخيرة من سلسلة التفاعلات التنفسية تعتمد على انزيم هو عبارة عن صبغة تنفسية تحتوى جزيئاتها على معدن ثقيل heavy metal pigment وهى التى يتحد بها السيانيد أو أول أكسيد الكربون ويطلق على هذه الصبغة التنفسية اسم cytochrome oxidase وقد أدى اكتشاف هذه الصبغة إلى معرفة أن الأكسجين الغازى يتفاعل مع الصورة المختزلة منها ferrous cytochrome oxidase ليكون مركب يحتوى على الأكسجين ويشبه كثيراً المركب المعروف باسم أوكسى هيموجلوبين oxyhaemoglobin وأمكن التيقن من تكون ذلك لما له من القدرة على الاتحاد مع (ك) شأنه شأن الهيموجلوبين . وعندما يحدث التفاعل بين cytochrome oxidase المختزل وبين الأكسجين بتأكسد الحديد المحتوية عليه من صورة الحديدوز إلى الحديدك . وبذلك ينتهى دور الأكسجين فى عملية التنفس . إلا أن اتحادهم مع الأيدروجين الحائرى وتكوين ماء يعتبر أيضاً من التفاعلات الحيوية الهامة .

وانزيمات cytochrome oxidases لا تتأثر بضغط الأكسجين المرتفع ولكن الضغط المنخفض جداً (٠.٥ ، ضغط جوى) يعتبر من العوامل المحددة لنشاطها . إذن فالضغط الأكسجيني (٢ ، ضغط جوى) يكون مناسباً لنشاطها إذا كان له القدرة على الدخول إلى الخلايا .

وانزيمات cytochrome oxidase بخلايا البكتيريا تبدو مختلفة عن تلك الخاصة بالخلايا الحيوانية كما أنها تختلف أيضاً باختلاف النوع البكتيرى . إلا أن معظم انزيمات cytochrome oxidase البكتيرية فيما عدا بعض الحالات الفردية تشبه تلك الخاصة بالأنسجة الحيوانية فقط فى قدرتها على الاتحاد مع أول أكسيد الكربون وفى أن هذه القدرة الارتباطية يمكنها أن تنعكس عند التعرض للضوء المرئى .



وقدرة الضوء على عكس التأثير الموقوف لانزيمات الأكسدة السيتوكرومية في وجود أول أكسيد الكربون ، قد مكنت من تحديد الموجات الضوئية التي تمتصها هذه الأنزيمات أو المركب المعقد الناتج بدرجة أكبر من غيرها .absorption spectrum

سبق ذكر أن الميتوكوندريا الحيوانية والبكتيرية تحتوي على كل مقومات الخلية من انزيمات الأكسدة ، لذلك فإن انزيمات الأكسدة السيتوكرومية تتركز في الميتوكوندريا البكتيرية .

وانزيمات الأكسدة السيتوكرومية المحتوية على حديد في صورة حديدك والناجمة عن التفاعل مع الأكسجين يمكنها أن تستقبل الإلكترونات من مجموعة من الصبغات المحتوية على haemation والتي تعرف بصبغات السيتوكروم cytochrome pigments ويعرف إلى الآن ثلاث صبغات سيتوكرومية هي ( أ ، ب ، ج ) ، أمكن فقط الحصول على الصبغة ( ج ) منها في حالة نقية ، كما وجد أن الصبغة ( ب ) تتأكسد ببطء شديد في حين أن ( أ ، ج ) لا يمكنهما أن يتفاعلا مع الأكسجين في غياب انزيم cytochrome oxidase والصبغات السيتوكرومية البكتيرية تختلف عن تلك الخاصة بالخلايا الحيوانية أو خلايا الخميرة في أن الخلايا البكتيرية قد تحتوي على عدد أكبر منها أو قد لا تحتوي عليها بالمرّة . والبكتيريا *E. coli* تحتوي على صبغة واحدة منها لها نفس القدرة الامتصاصية الضوئية لتلك الخاصة بسيتوكروم ( ب ) ولكنها تختلف عنها في أنها لا تتأكسد من نفسها not auto - oxidizable ( تحتاج إلى سيتوكروم أكسيداز ) ويطلق عليها سيتوكروم ( ب<sub>١</sub> ) وبين ( جدول رقم ١٩ ) توزيع صبغات السيتوكروم بأنواعها المختلفة في البكتيريا المختلفة . ومن الجدول المذكور نجد أن بعض الأنواع البكتيرية لا تحتوي على صبغات سيتوكرومية إطلاقاً ، وبالتالي لا يمكنها أن تقوم بعمليات الأكسدة بالاستعانة بطرق السيتوكروم السابق وصفها . ومن المحتمل أن هذه الكائنات قد تحتوي على صبغات أخرى تحل محل صبغات السيتوكروم ولكن وجد أن نوعاً واحداً

من هذه البكتيريات يمكنه أن يفرز صبغات أخرى غير انزيمات السيتوكروم  
يمكنها أن تتأكسد بطريق عكسي . وهذا النوع البكتيرى هو

*Pseudomonas pyocyanea* و *Pseudomonas aeruginosa* والتي تفرز نوع من  
الصبغات تعرف باسم البيوسيانيين Pyocyanine يمكنها أن تعمل كحامل  
للإيدروجين لبعض انزيمات إزالة الإيدروجين . وعلاوة على ذلك فقد اشار  
البعض إلى احتمال احتواء خلايا هذا النوع البكتيرى على الصبغات السيتوكرومية

جدول رقم ١٩ : انتشار الصبغات السيتوكرومية  
في البكتيريا المختلفة

سيتو كروم أو أكسيدااز	الصفات السيتوكرومية			البكتيريا
	ج	ب	ا	
				هوائية اجباراً
+	+	+	+	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
+	+	+	-	<i>Azotobacter chroococcum</i>
				غير هوائية اختياراً
+	+	+	+	<i>Ps. Pyocyanea</i>
+	-	+	+	<i>Stap. aureus</i>
-	-	+	-	<i>E. coli</i>
-	-	+	-	<i>Salmonella typhosa</i>
-	-	-	-	<i>Lactobacillus acidopholus</i>
				غير هوائية اجباراً
-	-	-	-	<i>Clostridium tetani</i>
-	-	-	-	<i>Clostridium welchii</i>

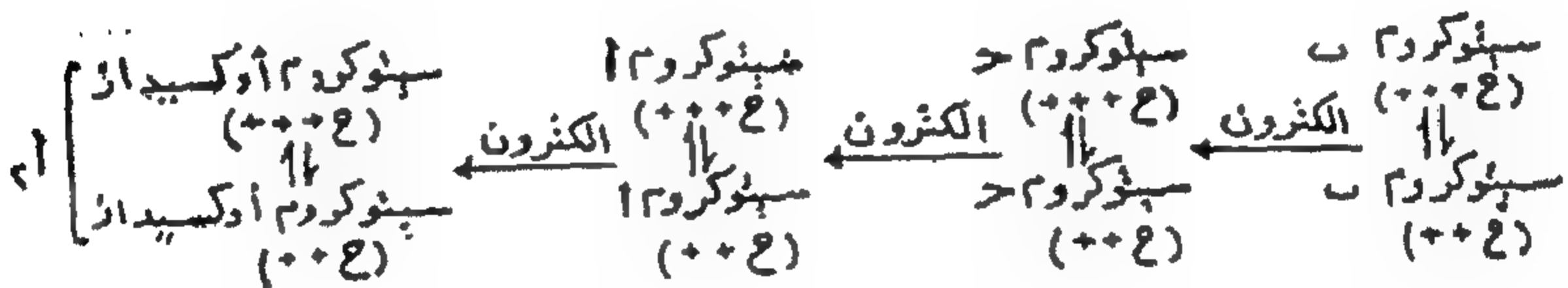
والبكتيريات الخالية من الصبغات السيتوكرومية إما أن تكون غير هوائية  
اجباراً أو ميكروايروفيلية *microaerophilic* مثل *Lactobacilli* أو *Streptococci*

وهذا يوضح أن غياب صبغات السيتوكروم يؤدي إلى عجز الخلايا عن استعمال الأكسجين. وباستعمال انزيمات ازالة الهيدروجين المعزولة من الخلايا البكتيرية يمكن دراسة نشاطها خارج الخلايا باستبدال صبغات السيتوكروم ببعض الصبغات الأخرى التي تعرف باسم ريد كس redox مثل صبغة أزرق الميثيلين أو أزرق الكريزيل cresyl blue حيث تعمل أنزيمات ازالة الهيدروجين بنقل الأيدروجين من مادة التفاعل إلى الصبغة (dye) حيث أنه باختزالها يزال لونها ويمكنها أن تتفاعل مع الأكسجين مباشرة autooxidizable .

ولما كانت كل من صبغات السيتوكروم عبارة عن صبغة تحتوى على الهيماتين وتكون متصلة بالبروتين الأنزيمى ( كمرافقات أنزيمية ) وأن انتقال الإلكترونات يؤدي إلى تحويل محتوياتها من الحديد من صورة الحديد إلى حديدوز فانه يمكن اعتبار نظام عملها كما يلي :

سيتوكروم سيتوكروم سيتوكروم

(ب) ← (ج) ← (أ) ← سيتوكروم أو أكسيداز - > أ



وبهذه الطريقة يبدو أن صبغات السيتوكروم تمرر الإلكترونات إلى الأكسجين ولكن عملية ازالة الايدروجين تقتضى ازالة ( ٢ يد ) من مادة التفاعل وليس الإلكترونات. اذن ما الذى يقوم باختزال صبغات السيتوكروم؟ هناك نظم أخرى تتوسط صبغات السيتوكروم والمرافقات الانزيمية والتي يطلق عليها النظم التحويلية transforming systems وهذه النظم لها القدرة على تحويل ( ٢ يد ) إلى ( ٢ يد + ) + الكثرونين . وهذه النظم الأنزيمية تكون متراكبة بطريقة تسمح باعطاء الإلكترونات واحداً عقب الآخر وهذه هي التي تختزل صبغات السيتوكروم . وهذه النظم التحويلية هي عبارة عن انزيمات

تحتوى على فلافين فهى انزيمات flavoprotein dinucleotide ويمثلها انزيم cytochrome reductase فى حالة المرافق الأنزيمى I Diaphorase فى حالة المرافق الأنزيمى II كما سبق أن ذكرنا . وجزئيات هذه الانزيمات تكون ذات تركيب خاص بحيث يكون أحد محتوياتها من ذرات النيتروجين ذو تكافؤ ٥ فى حين أن الذرة الأخرى تكون ذات تكافؤ ٣ . لذلك فإن جزيء هذه المادة يمكنه أن يمرر الكترولونات واحد عقب الآخر إلى الصبغات المحتوية على حديد . وايونات الايدروجين المنطلقة ( يد + ) تدخل فى محتويات الخلايا لتوازن أو تحل محل أيونات الايدروجين التى تتحد مع الأكسجين .

#### وظائف الطرق التنفسية :

إن الوظيفة الرئيسية للطرق التنفسية كما سبق أن بينا هو اطلاق الطاقة وتوفيرها للكائن البكتيرى . بعض منها يطلق طاقة يمكن للخلايا الاستفادة منها فى كل احتياجاتها والبعض الآخر يطلق طاقة تستعمل فقط لتدفئة جسم الخلية علاوة على توفيرها لبعض المركبات الوسطية الهامة فى العمليات التخليقية بالخلية .

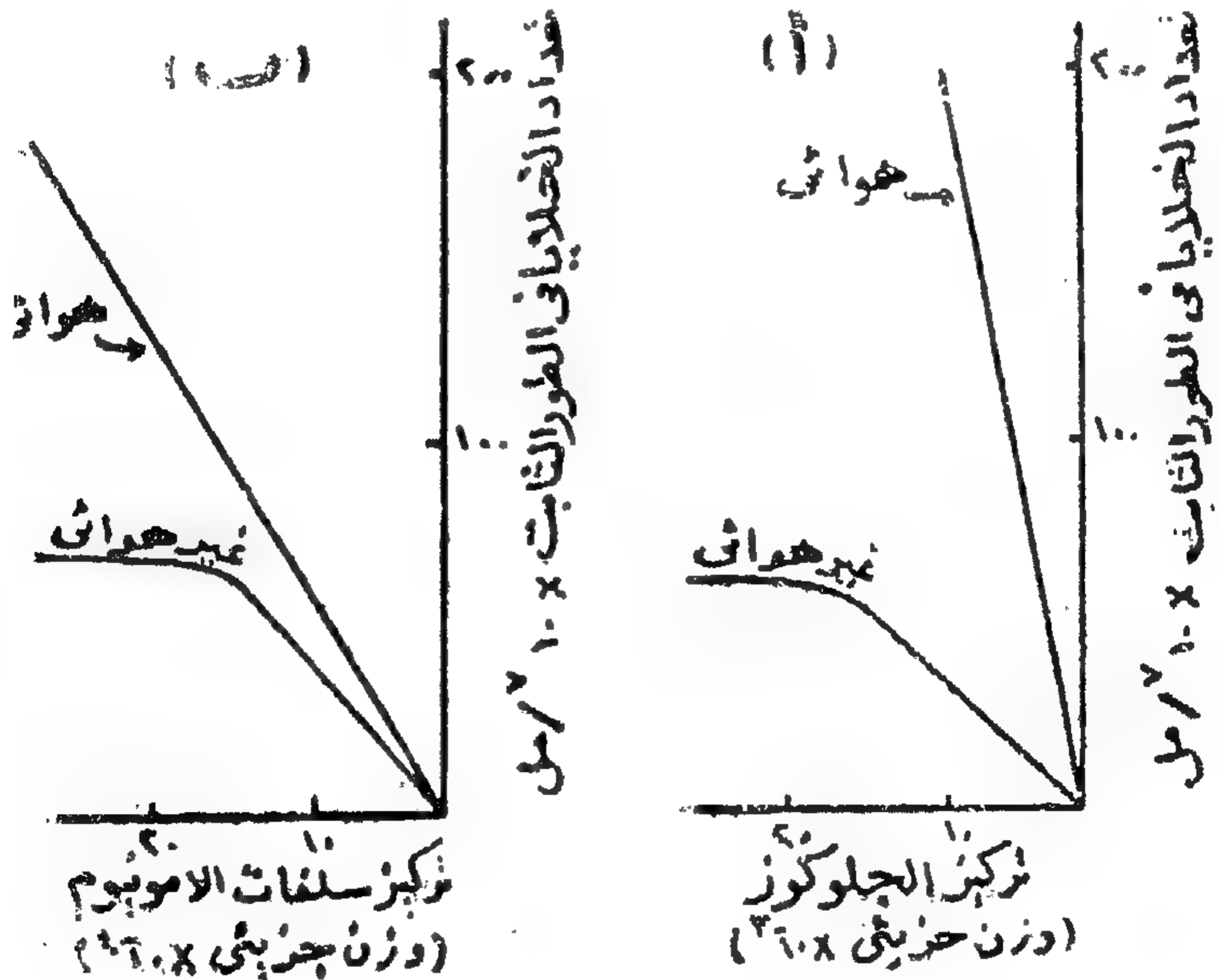
وعندما يمتلك كائن بكتيرى غير هوائى اختيارا طريق تنفس ينطلق عنه طاقة فإن نمو هذا الكائن فى وجود الهواء يسمح باستهلاك كمية من مادة التفاعل تزيد بما قيمته ٥ — ١٠ مرات عما إذا نعى الكائن فى ظروف غير هوائية . وهذا يبين أن كمية الطاقة المتكونة أثناء النمو فى وجود الهواء لكل وحدة من وحدات مادة التفاعل تكون أكبر منها فى حالة غيابه . والعلاقة بين كمية النمو ودرجة استهلاك مادة التفاعل فى وجود الهواء أو فى غيابه درست بالتفصيل واسفرت عن معلومات جديدة منها :

١ - تأثير باستير ، ٢ - الفسفرة التأكسدية ، ٣ - التمثيل التأكسدى . وسوف نتناول باختصار كل من هذه الظواهر .

#### ١ - تأثير باستير : Pasteur effect

إن ما يعرف بتأثير باستير هو باختصار ما سبق شرحه من قبل عن علاقة النمو

والطاقة الناتجة من كل وحدة من وحدات مادة التفاعل في وجود أو غياب الهواء . فكثر من الكائنات البكتيرية تنمو بدرجة افضل في وجود الهواء . أو بمعنى آخر فان كمية مادة التفاعل اللازمة للحصول على نفس كمية النمو تكون أقل في حالة وجود الهواء عنها في غيابه بمعنى أن النمو في وجود الهواء يكون أكفاً بكثر لكل وحدة من وحدات مادة التفاعل . ويبين ( شكل ١٠٥ ) هذه الظاهرة بوضوح . ففي المنحنى ( ١ ) من هذا الشكل يلاحظ أنه عندما تكون كمية الجلوكوز هي العامل المحدد (  $10 \times 10 - 2$  جزيء ) يتوقف النمو في غياب الهواء عندما يصل عدد الخلايا (  $50 \times 10^7$  / مل ) في حين يكون النمو في وجود الهواء  $250 \times 10^7$  خلية / مل من المزرعة . وهذا يعنى أنه في وجود نفس كمية مادة التفاعل يتفوق النمو في حالة وجود الهواء . وفي الجزء ب من ( شكل ١٠٥ ) يلاحظ أنه في حالة وجود المواد الغذائية التي



شكل ١٠٥ : العلاقة بين النمو ووجود الأكسجين في خلايا البكتريا *Aerobacter aerogenes*  
 (أ) النمو على تركيزات مختلفة من الجلوكوز (ب) النمو على تركيزات مختلفة من سلفات الأمونيوم .



لا يتطلبها الكائن البكتيري انموه ( سلفات الامونيوم ) يقل الفرق في النمو إذا ماحدث في وجود الهواء أو في غيابه .

وقد سبق أن قسمنا البكتيريات إلى مجاميع حسب حاجتها من الأكسجين ونعود هنا لمناقشة علاقة تأثير باسثير بكل مجموعة . فمثلا البكتيريا غير الهوائية إجبارا والتي تندسم في وجود الأكسجين نتوقع اذن عدم وجود تأثير باسثير أما فيما يختص بالبكتيريات التي لا تتأثر بوجود أو غياب الأكسجين *indifferents* والتي تمتلك طرقا توصلها إلى الأكسجين ولكن لا ينشأ عن ذلك طاقة يمكن للخلايا استعمالها كالبكتيريا *Streptococcus Lactis* التي تنمو في وجود الهواء بدرجة لا تختلف عن نموها في غيابه ، وكذلك البكتيريا *Strep. faecalis* والتي تنمو في بيئة ( البيتون - جلو كوز ) بدرجة متماثلة في وجود أو غياب الهواء . مثل هذه البكتيريا لا تحتوي على صبغات سيتكرومية ، لذلك فعندما تنمو هوائيا لا تستهلك أكسجين . أما إذا نمت في بيئة محتوية على جلسرول فهي تأكسده إلى حمض لاكتيك في وجود الهواء فقط وتستهلك كمية كبيرة من الأكسجين مكونة ( يد ٢ ا ٢ ) والمركب الأخير قد يسمم الخلايا إذا لم يزال منها . من ذلك نرى أن هذه البكتيريا لا تمتلك القدرة على أكسدة الجلوكوز هوائيا ولكنها تمتلك القدرة على أكسدة الجلسرول هوائيا وهذه القدرة لا ينطلق عنها طاقة كافية إلا أن تحولات حمض اللاكتيك الأخرى هي التي ينطلق عنها الطاقة اللازمة للخلايا . ففي وجود الهواء أو غيابه تكون كمية النمو الناتجة عن أكسدة جزئ واحد من الجلسرول مساوية لتلك الناتجة عن أكسدة نصف جزئ جلو كوز . من ذلك يتضح أنه من الخطأ التقرير بأن مثل هذه الكائنات *indifferents* ، لا تمتلك طريقا يوصلها إلى الأكسجين أو أنها لا تستهلك الأكسجين . ولكن يمكن القول بأن استهلاكها للأكسجين لا ينطلق عنه طاقة يمكن للخلايا الاستفادة منها . ومعظم بكتيريا حمض اللاكتيك تنتمي إلى هذه المجموعة .

أما فيما يختص بالبكتيريا الاختيارية والتي يمكنها أيضا أن تنمو في وجود

أو في غياب الأكسجين ولكن نموها في وجود الهواء يكون أفضل بكثير ،  
والبكتيريا *E. coli* تعتبر من أمثلة هذه المجموعة ، وطبيعي أن مثل هذه  
البكتيريا تظهر بوضوح تأثير باستير .

والبكتريات الهوائية اجبارا والتي لا تنمو الا في وجود الهواء ولا تنمو  
إطلاقا في غيابه تظهر أقصى درجة من درجات تأثير باستير . وبعض العلماء  
يعتقدون أن تطبيق ظاهرة تأثير باستير على أفراد هذه المجموعة من الكائنات  
والتي يكون نموها معدوم في حالة غياب الأكسجين تعتبر من الأمور المبالغ  
فيها ، وأن ظاهرة تأثير باستير لا يمكن تطبيقها الا على الكائنات الاختيارية  
في احتياجاتها من الأكسجين مثل تلك الهوائية اختيارا أو غير الهوائية اختيارا

#### الفسفرة التأكسدية : Oxidative Phosphorylation

سبق أن ذكرنا في الفصل السابق أن أحد صور الطاقة التي تستعملها الخلايا  
هي تلك المخزنة بالروابط الفسفورية الغنية بالطاقة . وفي عمليات الأكسدة التي  
تستغل الصبغات السيتوكرومية السابق وصفها تنتج روابط فسفورية غنية  
بالطاقة . اذن فهناك عمليات فسفرة تأكسدية حيث أن انتقال ( ٢ يد ) من  
المرافقات الانزيمية ( TPN أو DPN ) عن طريق الانزيمات الفلافوبروتينية  
flavoproteins ( cyt. reductase أو diaphorase ) إلى صبغات  
السيتوكروم وبالتالي إلى انزيم cyt. oxidase ثم إلى الأكسجين يتحول  
الفوسفات المعدني إلى روابط فسفورية غنية بالطاقة في مركبات عضوية .  
وبانطلاق طاقة نتيجة لمرور ( ٢ يد ) بالخطوات السابق الإشارة إليها فإنه  
يتكون ٤ روابط فوسفورية غنية بالطاقة لكل جزيء من الايدروجين ( ٢ يد )  
المنقول .

من ذلك يتضح أن انتقال الايدروجين إلى الأكسجين عن طريق نظام  
سيتوكرومى كامل فان الطاقة الناتجة لا تظهر على صورة حرارة بل في صور  
يمكن للخلايا استغلالها ويمكن قياسها ليس فقط عن طريق تقدير النمو بل

أيضا عن طريق كمية الفوسفات المعدنية التي تتحول إلى صور تحتوى على روابط غنية بالطاقة .

### ٣ — التمثيل البنائي التأكسدى oxidative assimilation

ظاهرة تشبه تلك التي تميز زيادة النمو في وجود الهواء ولكن تختلف عنها في أن الخلايا نفسها تكون متوقفة عن النمو أثناء تقديره . بمعنى أنه عندما يراد دراسة قدرة الخلايا على استعمال مادة تفاعل معينة كالجلكوز أو اللاكتوز تضاف هذه المواد إلى الخلايا المستريحة resting cells ( متوقفة عن النمو ) وبعد فترة معينة تختفى مادة التفاعل وحينئذ تنوقف عمليات الأكسدة . وباجراء التحليلات اللازمة لمثل هذا المخلوط نجد أن ٣٠-٦٠٪ من مادة التفاعل تأكسدت متحولة إلى ( ك ا ٢ - ا ٢ يد ا ٢ ) وما يتبقى يكون قد مثل بالخلايا فمثلا إذا أضيف ١٠ جزيئات من الجلكوز ( ٦٠ جزيء كربون ) ففي المواد الناتجة يمكننا أن نقدر ٣٠ جزيء ( ك ا ٢ ) بالرغم من اختفاء كل الجلكوز المضاف . لذلك نجد أن الخلايا قد زادت بما يقرب من ٣٠ جزيء كربون . وهذا التمثيل التأكسدى يرجع إلى الطاقة المنطلقة من عمليات الأكسدة والتي تسمح بتحويل جزء من مواد التفاعل إلى مكونات خلوية .

### مستقبلات الايدروجين الأخرى غير الأكسجين الغازى

Hydrogen acceptors other than gaseous oxygen

ان الأكسجين الغازى قد لا يكون متوافرا دائما للخلايا البكتيرية ، وتتواجد بالطبيعة طرقا يستغل فيها الطاقة الناتجة عن تكوين الماء بالرغم من غياب الأكسجين الغازى . وتوجد مجموعتان من الكائنات يمكنها الحصول على الطاقة اللازمة لها عن هذا الطريق . المجموعة الأولى تشتمل على البكتيريات غير الهوائية اجبارا والتي تمتلك القدرة على توصيل الايدروجين إلى الأكسجين المرتبط ( غير الحر ) ويمكنها عن هذا الطريق النمو في غياب الأكسجين الغازى الحر بشرط أن تتواجد المركبات المحتوية على الأكسجين المرتبط .

والمجموعة الثانية تشتمل على كائنات غير قادرة على النمو الهوائى ولكنها لا تتسمم فى وجود الهواء حيث لا تمتلك القدرة على استغلال الأكسجين الغازى، ولكنها تمتلك القدرة على استعمال الأكسجين المرتبط .

الكائنات التى تستعمل الأكسجين المرتبط فقط :

يمكن تقسيم هذه الكائنات إلى مجموعتين رئيسيتين مجموعة تشتمل على البكتيريا ذات القدرة على توصيل الأيدروجين إلى الكبريتات والأخرى تشمل الكائنات التى تستعمل ( ك ا ٢ ) كمادة نهائية لاستقبال الأيدروجين وينتج عن ذلك تكوين غاز الميثان . وكلا المجموعتين تشتمل على عدد قليل من الكائنات .

وقدرة البكتيريا على استعمال الكبريتات كمستقبل نهائى للأيدروجين تميز قليل من الأنواع البكتيرية غير الهوائية اجبارا والتى تنتشر بكثرة فى الطبيعة . ومن أمثلتها البكتيريا *Vibrio desulfuricans* ، وهى بكتيريا غير هوائية اجبارا ، ميزوفيلية ( ٣٠° م ) ، سالبة لصبغة جرام ، غير متجترمة ، تتميز بظاهرتين شاذتين . فأحيانا يمكن أن يعزل من التربة بكتيريا ذات الأوصاف السابقة إلا أنها تكون جراثيما داخلية وتفضل النمو على درجات مرتفعة من الحرارة ( ثرموفيلية ٥٥° م ) . وعندما يزرع هذا النوع الميزوفيللى منها مباشرة على درجة حرارة مرتفعة ٥٥° م فإنها تمتنع عن النمو . أما إذا أقلمت تدريجيا للنمو على درجة ٤٠° م ثم ٤٥° م ثم ٥٠° م وأخيرا ٥٥° م يمكن لهذه الخلايا أن تنمو فيما بعد على درجة ٥٥° م وتبدأ الخلايا حينئذ فى التجثثم . وإذا أعيد تنمية هذه الخلايا على درجة ٣٠° م مرة أخرى فإنها تنمو ولكن لا تكون جراثيما داخلية . وهذه حالة يحدث فيها أن تتحول البكتيريا الميزوفيلية إلى ثرموفيلية نتيجة للأقلمة الحرارية والتى فيها أيضا تتحول الخلايا غير المتجترمة الميزوفيلية إلى خلايا متجترمة ثرموفيلية .

والمجموعة الثانية وهى البكتيريات ذات القدرة على استعمال (ك<sub>١</sub>) كمستقبل نهائى للايدروجين هى أيضا غير هوائية اجبارا . وبالطبع كسل الكائنات التى يمكنها تمثيل (ك<sub>١</sub>) فى محتوياتها الخلوية يجب أن تختزل له أولا . ولكننا هنا نقصد الكائنات التى يمكنها اختزال (ك<sub>١</sub>) إلى ميثان (ك<sub>٢</sub>يد) وتعرف هذه البكتيريات باسم بكتيريا الميثان وهى التى يمكنها تكوين كميات كبيرة منه . و (ك<sub>١</sub>) فى هذه الحالة يستعمل كمصدر للأكسجين و (٢يد) المنقول من مواد التفاعل هو الذى يختزل (ك<sub>١</sub>) (ك<sub>٢</sub>يد) ويتكون الماء أيضا كناتج للتفاعل . كما ينتج أيضا عن هذا التفاعل كمية من الطاقة كما سبق أن بينا . والمثال التالى يوضح كيفية حدوث ذلك فى حالة استعمال كحول الايزوبروباييل كمادة للتفاعل . والذى ينتج عنه اسيتون لاستعمله الخلايا .

1  
11

٤ك<sub>١</sub>يدم — ك<sub>٢</sub>يدايد — ك<sub>١</sub>يدم + ك<sub>١</sub>ا — ٤ ك<sub>٢</sub>يدم — ك<sub>١</sub> — ك<sub>٢</sub>يدم +  
كحول ايزوبروباييل اسيتون

ك<sub>٢</sub>يدم + ٢يدم ١  
ميثان

وهناك بعض السلالات يمكنها النمو فى مزارع نقية على بيئة تحتوى على مخلوط من (ك<sub>١</sub>ا + يد) مكونة ميثان وطاقة . كما توجد سلالات يمكنها أن تستعمل حمض الفورميك لتكون ميثان و (ك<sub>١</sub>) وماء ومكونات خلوية وفى كل هذه الحالات لا يمكن أن يستبدل (ك<sub>١</sub>) بأى مادة أخرى .

الكائنات التى تستعمل كل من الأكسجين الغازى والأكسجين المرتبط:

هذه الكائنات تكون هوائية إجبارا والتى يمكنها أن تنمو فى غياب الهواء إذا تواجد الأكسجين المرتبط . وتعتبر النترات المصدر الوحيد للأكسجين المرتبط لهذه المجموعة من الكائنات وأحيانا يؤدي النيتريت نفس الغرض فى



بعض الحالات الخاصة . وفي الحقيقة أن بعض البكتيريا الهوائية اجبارا يمكنها أن تنمو إلى حد ما في ظروف غير هوائية إذا ما زودت بيئاتها بمصدر من الأكسجين المرتبط أو مستقبلات إلكترونية أخرى مثل الفيريسيانيد ferricyanide ولكن في معظم هذه الحالات يمكن لهذه المواد أن تتفاعل في بعض خطواتها إلى أن تصل إلى الأكسجين بالطرق العادية . هذا واستعمال النترات كمستقبلات للإيدروجين لا يتضمن طرقا عادية للوصول إلى الأكسجين واستقبال النترات للإيدروجين تبدو عملية خاصة ووحيدة من نوعها وتؤدي في النهاية إلى إطلاق غاز النيتروجين حيث تعرف باسم عملية عكس التآزت . denitrification

وعادة كل كائن بكتيري يمكنه أن يستغل النترات كمصدر للإيدروجين يكون له القدرة على اختزالها إلى أمونيا داخل الخلايا . وهذه العملية تعتبر ذات أهمية بسيطة من ناحية استغلال النترات كمصدر للأكسجين وتعرف باسم عملية تمثيل النترات nitrate assimilation (  $\text{N}^+ \rightarrow \text{N}^-$  ) كما أن هناك عدة كائنات يمكنها استغلال النترات كمستقبلات للإيدروجين وذلك بتحويلها إلى نيتريت (  $\text{N}^+ \rightarrow \text{N}^-$  ) والعملية تعرف باسم إختزال النترات nitrate reduction . وفي هذه الحالة تقوم النترات بوظيفة تنفسية هامة ولكن بدرجة محدودة حيث أن النيتريت المتكون يكون ساما نوعا ما للخلايا . من ذلك نرى أن مثل هذا التفاعل قد يسمح إلى حد ما للبكتيريا الهوائية إجبارا بالنمو في غياب الأكسجين الغازي .

وعملية عكس التآزت denitrification والتي سبق أن أشرنا إليها والتي يتحول فيها كل من النترات (  $\text{N}^+$  ) أو النيتريت (  $\text{N}^-$  ) أو أكسيد النيتروجين (  $\text{N}^+$  ) إلى نيتروجين غازي يقوم بها عدد محدود من الكائنات البكتيرية الهوائية مثل أنواع الجنس *Bacillus* ، وبعض أنواع الجنس *Pseudomonas* . والعملية تتم فقط عندما تتواجد هذه البكتيريا تحت ظروف غير

هوائية ، وتفاصيل الخطوات التي تتم بها هذه التفاعلات لإطلاق غاز النيتروجين غير معروفة على وجه التحديد إلا أنه وجد أن من ضمن المواد الوسيطة الناتجة (حمض الهيونيتروز hyponitrous acid ، والنتراميد nitramide والنتروكسيل nitroxyl والهيدروكسألامين hydroxalamine ) .

### البكتيريا غير الهوائية إجباراً :

سبق أن ذكرنا أن التفاعلات الهامة لازالة الأيدروجين من المواد المعطية له وتوصيله إلى المواد التي تستقبله ينتج عنها طاقة ، وتكون مسئولة عن حدوث التخمر ، وعن إمكانية الحياة بدون الحاجة إلى الهواء . ثم ناقشنا أيضاً كيفية استعمال بعض الكائنات البكتيرية للكبريتات أو النترات أو (كا<sub>٢</sub>) كمستقبلات ديدروجينية . والميزة التي تعود على الكائن الذي يتميز بواحد أو بأكثر من هذه الطرق هي الحصول على مزيد من الطاقة لكل جزيء يستعمل من مادة التفاعل . ولكن يبدو أنه ليس لوجود الأكسجين (الغازي أو المرتبط) أهمية قصوى لأي من الطرق غير أن وجوده يعتبر من الصفات المميزة للكائنات من ناحية الحصول على الطاقة .

وهناك مجموعة من الكائنات البكتيرية تعرف بالبكتيريا غير الهوائية إجباراً والتي يكون الأكسجين ضاراً لها . لماذا اذن لا تنمو مثل هذه الكائنات تحت ظروف هوائية أو بمعنى آخر في وجود الأكسجين ؟

في الحقيقة أن البكتيريا التابعة لجنس *Clostridium* ، وبعض البكتيريا الأخرى غير الهوائية يمكنها أن تبدأ النمو وتستمر فيه في وجود كميات قليلة من الهواء ، ولكن هناك كثير من البكتيريا لا يمكنها ذلك والأخيرة هي التي تهمننا . فللاجابة على السؤال السابق نسوق النظريات التالية :

- ١ - أن الأكسجين يعتبر ساماً لمثل هذه البكتيريا
- ٢ - في وجود الأكسجين يتكون بخلايا الكائن غير الهوائي كمية كبيرة من

فوق اكسيد الايدروجين ( يد<sub>٢</sub> ا<sub>٢</sub> ) السام حيث أن البكتيريا غير الهوائية اجبارا لا تمتلك انزيم الكاتاليز لتساعد على هدم فوق اكسيد الايدروجين إلى ماء + ا<sub>٢</sub>.

٣ — محتاج الكائن غير الهوائي اجبارا إلى قدرة تأكسدية واختزالية - (o/R)oxidation reduction potential منخفضة ولكن اذا توفرت المواد ذات القدرة التأكسدية الاختزالية المنخفضة فان النمو يمكنه أن يحدث حتى في وجود الأكسجين . ولتفسير المقصود بالقدرة التأكسدية الاختزالية نذكر أن في كثير من تفاعلات ازالة الايدروجين فان ٢ يد<sub>٢</sub> ( يد<sub>٢</sub> + + الكترول ) . فاذا وضعت قطعة من معدن غير فعال ( مثل قطعة بلاتين ) في المحلول الذي تحدث فيه هذه العملية فان الالكترونات تتجمع على القطعة المعدنية محدثة شحنات كهربائية يمكن قياسها . وهذه القياسات تكون متلازمة مع نسبة المواد المؤكسدة إلى تلك المختزلة والتي تتواجد بالمحلول . وقد وجد أن كثيرا من الكائنات غير الهوائية لا تنمو في البيئات المحتوية أو المعاملة بفوق اكسيد الايدروجين أو البرمنجات أو أى مادة مؤكسدة قوية . وبعض البكتيريا الهوائية من الناحية الأخرى لا يمكنها النمو حتى في وجود الهواء في بيئات محتوية على الثيوجليكولات أو السستايين cysteine أو ايونات معدنية . وعدم القدرة على النمو في كلا الحالتين يرجع إلى عدم القدرة على بدء النمو من كميات لقاح صغيرة . ففي حالة البيئات المعاملة بالمواد المؤكسدة تكون لها قدرة تأكسدية اختزالية قوية وتلك المعاملة بالعوامل المختزلة يكون لها قدرة تأكسدية اختزالية منخفضة . من هنا يبدو أن تأثير القدرة التأكسدية الاختزالية يتركز على بدء النمو ولا يمكن في هذه الأحوال معرفة أى يمكن اعتباره المسبب وأى يعتبر النتيجة .

من ذلك يتضح أن النظريتين الأولى والثانية لتفسير عدم قدرة البكتيريا غير الهوائية على النمو في وجود الهواء ليست سليمة بالرغم من وجود ما يؤيدها من براهين . والدليل على ذلك هو أنه عند تعريض المزارع البكتيرية غير

الهوائية اجبارا للأكسجين لفترات طويلة لا يؤدي إلى قتلها بل يمكنها أن تنمو مرة ثانية إذا ما أبعدت عن الهواء . فإذا كان أى من النظريتين المذكورتين صحيحا فإن التعرض للأكسجين يجب أن يمنع النمو بصفة دائمة أو بمعنى آخر كان لابد لفوق أكسيد الايدروجين المفروض تكونه أن يميت الخلايا . ولكن لا يحدث ذلك فى حدود معينة ، ولهذا لا يعنى أن الأكسجين أو (يد<sub>٢</sub> ا<sub>٢</sub>) ليس لها تأثير على النمو بل يعنى أن وجودهما ليس مميتا للخلايا . إذن فالأكسجين أو (يد<sub>٢</sub> ا<sub>٢</sub>) يعمل على إيقاف النمو شأنه شأن المواد الكيماوية الموقفة للنمو والسابق الإشارة إليها . من ذلك يجب تعديل هذه النظريات كما يلي :

١ - أن الأكسجين يمنع النمو طالما كان موجودا . وقد يكون ساما ولكن بدرجة غير مميتة للخلايا .

٢ - وجود الأكسجين يسمح بتكوين (يد<sub>٢</sub> ا<sub>٢</sub>) والذي بدوره يكون ساما وليس مميتا .

٣ - يشترط وجود قدرة تأكسدية اختزالية منخفضة لحدوث النمو فى غياب الأكسجين .

والآن وبعد تعديل هذه النظريات يتضح أن النظريات الثلاث مرتبطة ببعضها بحيث لا يمكن التفرقة بينها . فشلا النظريتان الثانية والثالثة تعتبران ، تفسيراً للنظرية الأولى . وفى اعتقادنا أن النظريتين الأخيريتين هما الأقرب إلى الحقيقة . ويوجد من الحقائق ما يؤيد هاتين النظريتين . إلا أنه توجد أيضا حقائق ضدّهما منها مايلي .

١ - يمكن إظهار كمية الأكسجين التى تأخذها الخلايا oxygen uptake عند استعمالها لمواد تفاعل معينة . ولما كانت هذه الكائنات غير الهوائية تفتقر إلى طرق التنفس السيتوكرومية فإن الأكسجين المأخوذ فى هذه الحالة ينتج عنه (يد<sub>٢</sub> ا<sub>٢</sub>) . ولما كانت هذه الكائنات تفتقر إلى انزيم الكاتاليز فإن (يد<sub>٢</sub> ا<sub>٢</sub>)

الناتج يتكدس بالخلايا . والغريب في هذا أنه في بعض الأحيان بالرغم من أخذ الخلايا للأكسجين ، ومن تكدس (يد ٢٢٢) ، فإن الخلايا غير الهوائية تستمر في نموها إذا ما وضعت في بيئة خالية من الأكسجين أو (يد ٢٢٢) . وهذا يعني أن هذه الكائنات البكتيرية لا يمكنها النمو في وجود الأكسجين ، ولكن تعريضها إليه لفترة مؤقتة لا يمنع نموها بصفة دائمة إذا ما بعدت عن الأكسجين ، وإلى هنا نجد أن كل هذه الحقائق تؤيد النظرية الثانية وهي أن (يد ٢٢٢) يمنع النمو طالما كان موجودا . ولكن هناك بعض البكتيريا غير الهوائية لم يمكن التأكد من ملاحظة استهلاكها للأكسجين كما لم يلاحظ بعد احتوائها على (يد ٢٢٢) أو بيرواكسيدات أخرى إلا أنها تظهر بالرغم من هذا عدم القدرة على النمو في وجود الهواء .

٢ — قد أمكن التحقق من أن البكتيريا غير الهوائية يمكنها النمو في البيئات ذات القدرة التأكسدية الاختزالية المرتفعة إذا ما أزيل منها الأكسجين . من ذلك نرى أن النمو غير الهوائي لا يتطلب قدرة تأكسدية اختزالية منخفضة « كما تنص النظرية الثالثة » بل أنه يتطلب فقط غياب الأكسجين من البيئة وهذه الحقيقة تبدو متعارضة مع النظرية الثالثة والسابق الإشارة إليها . من ذلك يتضح أن الأمر فيها يختص بعدم قدرة البكتيريا غير الهوائية على النمو في وجود الأكسجين لازال يحتاج إلى مزيد من البحث ؟



## المراجع

- Clifton, C. E. 1946. Microbial assimilation *Advances in Enzymology* 6 : 269.
- Green, D. E. 1941. Mechanisms of biological oxidation. Cambridge University Press, Cambridge.
- Green, D. E. 1941. Enzymes and trace substances. *Advances in Enzymology*. 1 : 177.
- Gale, E.F. 1952. The Chemical Activities of Bacteria. Academic Press Inc. N. Y. University Tutorial Press Ltd. London.
- Lardy, H. E. 1949. Respiratory enzymes. Burgess Publishing Co. Menneapolis.
- Oginsky, L. E. and W. W. Umbret, 1954. An Introduction to Bacterial physiology. W. H. Freeman and Co. San Francisco.
- Stickland, L. H. 1934. Studies on the Metabolism of Strict Anaerobes ( Genus *Clostridium* ). The Chemical Reactions by Which *Cl. Sporogenes* Obtains its energy. *Biochem. J.* 28 : 1746.
- Vennesland, B. and M. E. Hanke, 1940. The Oxidation — Reduction Potential Requirements of Non spore forming, Obligate Anaerobe. *J. Bacteriol.* 39 : 139.



## الفصل الثالث

### التحولات الأيضية للكربوايدرات

#### The Metabolism of Carbohydrates

سبق أن ذكرنا أن النمو البكتيري يتضمن تمثيل المواد الغذائية الأساسية التي تتوفر في بيئة النمو ، وتحويلها إلى مكونات خلوية مختلفة . والمكونات الخلوية هذه تكون أكثر تعقيدا من المواد الغذائية الأساسية فمثلا يمكن للبكتيريا ذاتية التغذية أن تكون بروتينها الحلوى من الامونيا وغاز ثاني أكسيد الكربون ومن الناحية الأخرى يمكن القول أن كمية الطاقة المخزونة بالمحتويات الخلوية تكون أكبر كثيرا من الطاقة المتواجدة بالمواد الغذائية الخام . وتبعاً لذلك فإنه يلزم توفير الطاقة قبل أن تبدأ الخلايا في عملياتها التخليقية أو حتى قبل أقدامها على النمو . وتكتسب المحتويات الخلوية الطاقة المرتفعة التي تميزها ، عن طريق هدم مكونات البيئة التي تستعمل كمصدر للطاقة . وعادة تحصل الخلايا البكتيرية على طاقتها بهدم الكربوايدرات المتواجدة بالبيئة ، وعملية الهدم هذه يمكنها أن تحدث في ظروف غير هوائية وتعرف العملية باسم التخمر fermentation أو قد تحدث في ظروف هوائية عن طريق عمليات تأكسدية .

وسوف نتناول في هذا الفصل مناقشة عمليات هدم الكربوايدرات هوائيا (أكسدة) وغير هوائيا (تخمير) ، أما العمليات التخليقية البنائية للكربوايدرات فسوف نناقشها أيضا كلما سنحت الفرصة لذكرها . وسوف نبين في دراستنا للتحولات الأيضية للكربوايدرات طريقتين رئيسيتين كل منهما يتضمن مجموعة من التفاعلات تؤدي إلى تحويل سكر الجلوكوز إلى حمض بيروفيك (الذي يعتبر المادة الأساسية التي تتكون في التخمرات المختلفة ) ثم تتابع التفاعلات المختلفة التي تعقب إنتاج حمض البيروفيك من الجلوكوز (أو من مصادر أخرى) . وعديد من هذه التفاعلات وبخاصة التفاعلات التي يشملها نظام مايرهوف امبدن Meyerhof — Embden system وكذا تفاعلات

دورة حمض الستريك citric acid cycle لها صفات ومميزات ووظائف فسيولوجية هامة يجب على كل من يقوم بدراسة فسيولوجيا البكتيريا أن يلم بها.

إن معظم أنواع البكتيريا المعروفة يمكنها أن تعيش على بيئات تحتوي على مواد كربوايدراتية . كما أن غالبيتها العظمى (باستثناء حالات فردية) يمكنها استعمال سكر الجلوكوز كمصدر للكربون . وسوف ينصب اهتمامنا على هذا السكر الاحادي للتعرف على طرق تخمره والمواد التي تنتج عنه حيث أن معظم الدراسات التخمرية قد تمت باستعمال هذا السكر . إن نواتج تخمر الكربوايدرات بواسطة خلايا البكتيريا عديدة (جدول رقم ٢٠) تختلف ، باختلاف البكتيريا المخمرة . و كما سبق أن بينا فإنه يمكن التفرقة بين البكتيريا في الدراسات التصنيفية على أساس قدراتها التخمرية وكذلك على أساس المواد الناتجة عن التفاعلات التخمرية .

وتبعا لنواتج تخمر الجلوكوز أمكن تمييز ست مجاميع تخمرية مختلفة من هذه البكتيريا وهي كما يلي :

١ — بكتيريا تحدث تخمر كحولي .

٢ — بكتيريا تحدث تخمر لاكتيكي بسيط حيث يتحول كل الجلوز إلى حمض لاكتيك وتعرف البكتيريا التي تتميز بهذا النوع من التخمر باسم البكتيريا الاحادية التخمر *homofermentus* مثل *Lactobacilli, Streptococci* .

٣ — بكتيريا تحدث تخمر لاكتيكي مختلط *Mixed lactic fermentation*: حيث ينتج حمض لاكتيك مختلطا مع حمض الحليك و كحول الايثايل وثاني اكسيد الكربون و احيانا ينتج جلسرول .

جدول ٢٠ : نواتج تخمر سكر الجلو كوز بواسطة البكتيرياات غير ذاتية التغذية .

غازات	احماض	كحولات	كيتون واحد
ثاني اكسيد الكربون ك <sub>٢</sub> ايدروجين (٢يد)	الفورميك يد - ك <sub>١</sub> ايد الجليك لاكتيك لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد بروبيونيك لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد بيوتيك لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد البيوتريك لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد السكسينيك لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد	ايتايل لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد بروبايل لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد ايروبروبيل لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد بيوتيل لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد ٢، ٣، بيوتيلين جليكول لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد لاكتيد	اسيتون لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد
مر كبات متعادلة : استيل مثيل كربينول دي استيل		لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد لاكتيد - ك <sub>٢</sub> ايد	

٤ - بكتيرياات تحدث تخمر بروبيوني Propionic fermentation :  
حيث تنتج كمية بسيطة من حمض اللاكتيك علاوة على حمض البروبيونيك  
وحمض الجليك ، وحمض السكسينيك وثاني اكسيد الكربون .

٥ - بكتيرياات مجموعة القولون (CDT) Colon — dysentery-typhoid group  
يمكنها احداث تخمر مميز يتكون نتيجة حمض لكتيك . وحمض

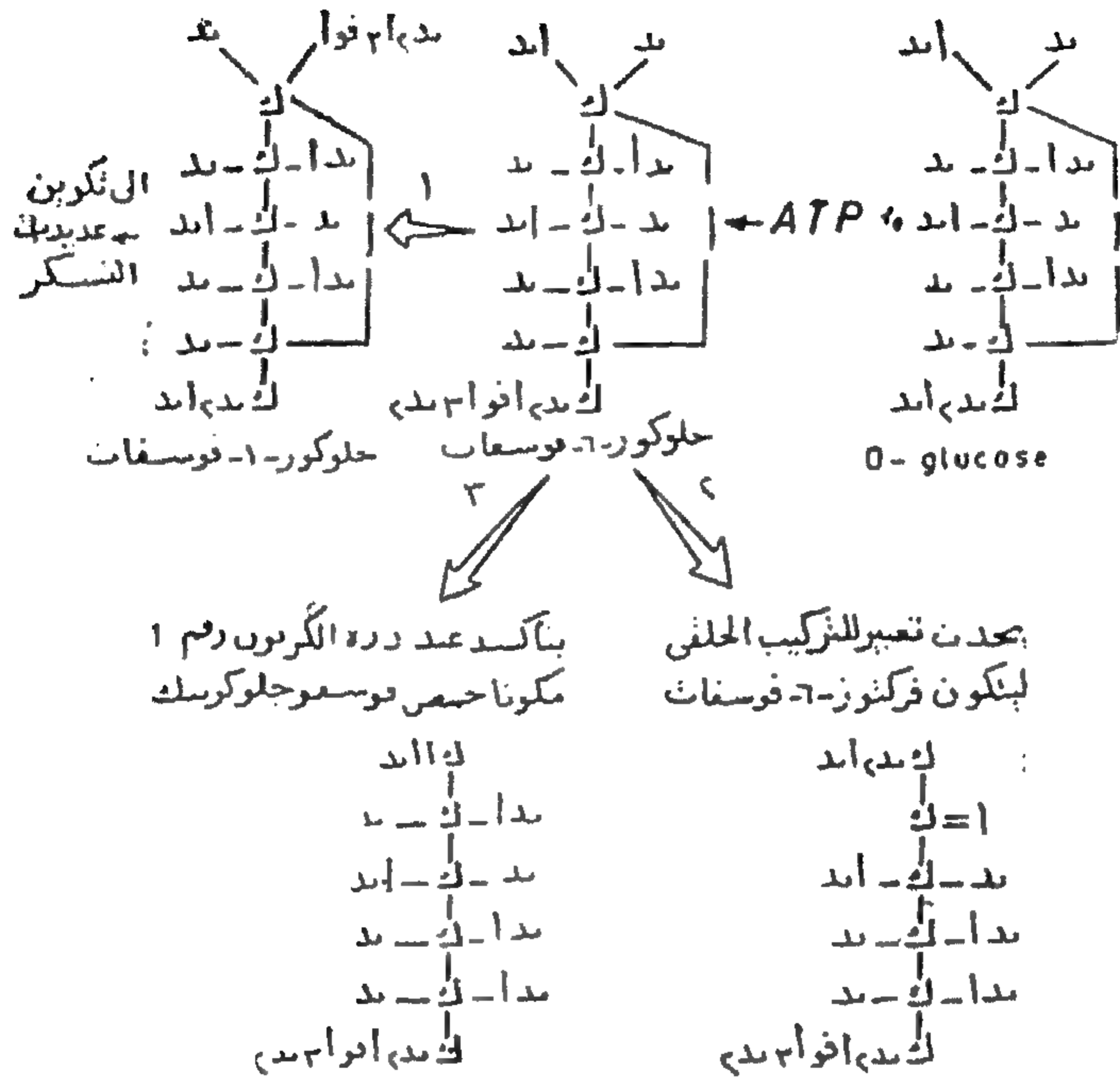


فورميك (يدك ايد) ، و كحول ايثايل وبيوتيلين جليكول ، وأحيانا أسيتون .  
وتقسم هذه المجموعة أحيانا إلى مجموعة تعطى تخمرات حمضية مختلطة وأخرى  
تعطى بيوتيلين جليكول .

٦ - بكتيريات تحدث تخمر بيوتيري Butyric fermentations :  
لا تنتج حمض لاكتيك بل تنتج حمض خليك ، وحمض بيوتيريك وكمية  
كبيرة من غازى الايدروجين وثانى اكسيد الكربون . بعض الأنواع قد  
تنتج اسيتون وبيوتيلين جليكول ، و كحول بيوتال و كحول ايزوبروباييل .  
وقد يتساءل البعض عن كيفية تكون مثل هذه المواد من جزيئات الجلوكوز  
وللإجابة على هذا التساؤل قامت دراسات عديدة ومتشعبة لفترة طويلة من  
الزمن أمكن عقبها التعرف على التفاصيل الدقيقة التى تتم لتكوين هذه المركبات  
والتي لا يتسع المجال هنا لسردها جميعا . ومن ضمن هذه الدراسات تلك التى  
أدت إلى التعرف على طرق هدم الجلوكوز غير هواثى فى خلايا العضلات  
الحيوانية وكذا فى خلايا الخميرة والتي تعرف باسم «جليكوليسز glycolysis»  
وقد أمكن حديثا التأكد من حدوثها بخلايا البكتيريا عندما تقدمت الطرق  
الدراسية فى عزل الانزيمات البكتيرية فى صورة نشطة خارج الخلايا . وعموما  
تشابه خلايا البكتيريا وخلايا الخميرة وكذلك خلايا أنسجة العضلات فى  
خطوات عملية الجليكوليسز هذه إلى الخطوة التى يتكون عندها حمض كما  
البيروفيك كما سترى فيما بعد .

وفى ما يلى ما يحدث لجزء سكر الجلوكوز من عمليات هدمية تحت الظروف  
غير الهوائية :

١ - يتحول جزء الجلوكوز أولا إلى استر فوسفاتى هو عبارة عن  
جلوكوز - ٦ - فوسفات فى وجود جزئى TAP المحتوى على روابط  
فوسفورية غنية بالطاقة . ويمكن لهذا المركب بعد تكونه أن يسير فى ثلاث  
اتجاهات مختلفة كما هو مبين فى (شكل ١٠٦) .



شكل ١٠٦ : الطرق الثلاث المختلفة التي تتبعها الخلايا الحية في التصرف في المركب جلوكوز-٦ - فوسفات تحت الظروف غير الهوائية .

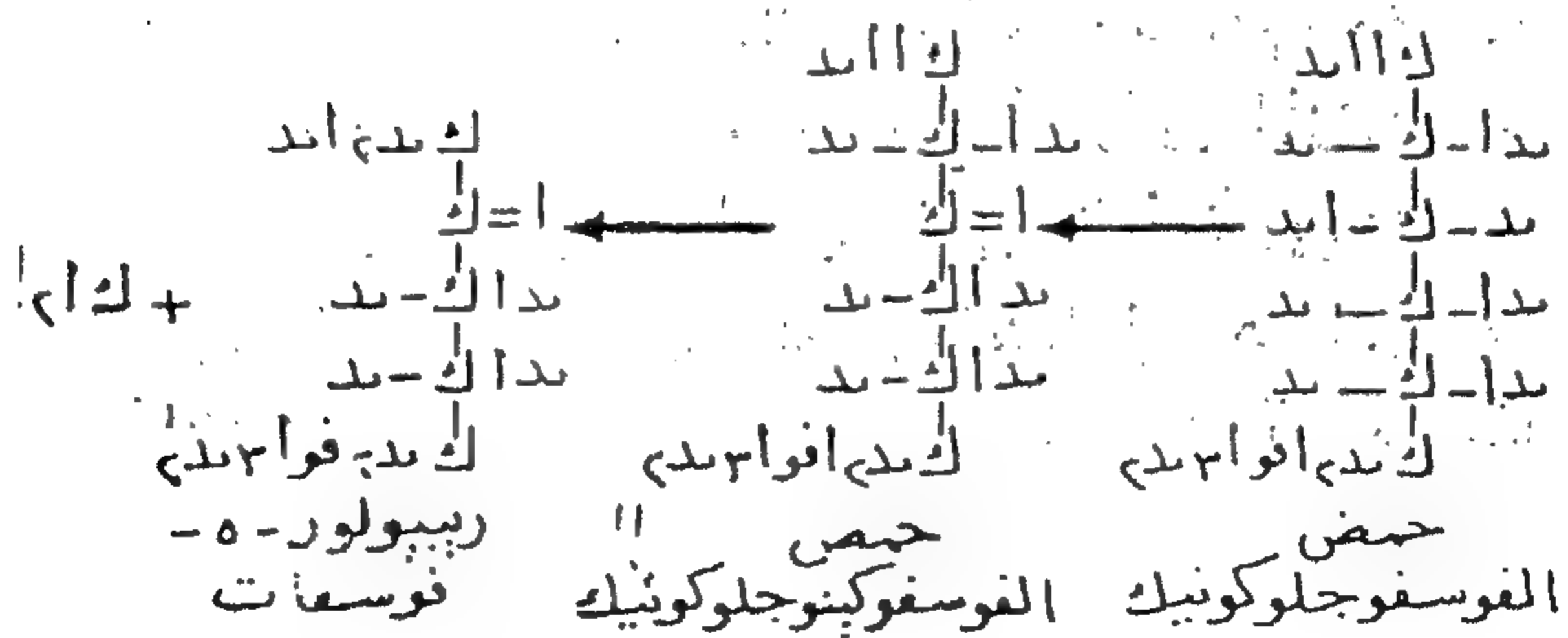
٢ - تنقل الفوسفات من ذرة الكربون رقم ٦ إلى الذرة رقم ١ . ليتكون المركب جلوكوز - ١ - فوسفات . وهذا التغير في تركيب الجزيء شكل لا يؤدي إلى هدمه أو انقسامه بل أن المركب الناتج يستغل في تكوين عديدات السكر اللازمة للخلية . إذن فهذا الاتجاه يعتبر اتجاهًا بنائياً وليس هدمياً . وسوف نعود لمناقشة تكون عديدات السكر في البكتيريا في مكان آخر من هذا الفصل ..

٣ - يحدث تغيير للتركيب الخلفي للمركب جلوكوز - ٦ - فوسفات متحولاً إلى فركتوز - ٦ - فوسفات . وبالمركب الأخير تبدأ سلسلة من التفاعلات التي تؤدي إلى تكوين مركبين كل منهما ذو ثلاثة ذرات كربونية

والتي تتحول بدورها إلى حمض بيروفيك ، والتحويلات الأيضية لهذا الحمض  
يتخذ طرقاً متعددة .

ويعتبر هذا الطريق أعنى (تحويل الجلوكوز - ٦ - فوسفات إلى حمض  
بيروفيك) من أكثر الطرق دراسة ويعرف بنظام مايرهوف ايمبدن Meyrhop  
Emdbene system . وهو يشمل الطرق الرئيسية المتبعة في هدم الجلوكوز  
في أنسجة العضلات الحيوانية وفي خلايا الخميرة كما أنه يحدث بكثرة أيضاً في  
الخلايا البكتيرية . ويبين (شكل ١٠٨) تفاصيل التفاعلات المختلفة التي  
يتضمنها هذا النظام .

٤ - والاتجاه الذي قد يتخذه المركب جلوكوز - ٦ - فوسفات  
يتضمن حدوث أكسدة في جزيئاته عند ذرة الكربون رقم ١ وينشأ عن  
ذلك تكون حمض الفوسفوجلوكونيك phosphogluconic acid ( شكل  
١٠٦) ويمكن لهذا المركب أن يتأكسد مرة ثانية عند ذرة الكربون رقم ٣  
وبعد هذا التأكسد تنفصل منه ذرة كربون في صورة ك١ ويتبقى مركب وسطي  
يتكون من ٥ ذرات كربونية كما يلي :



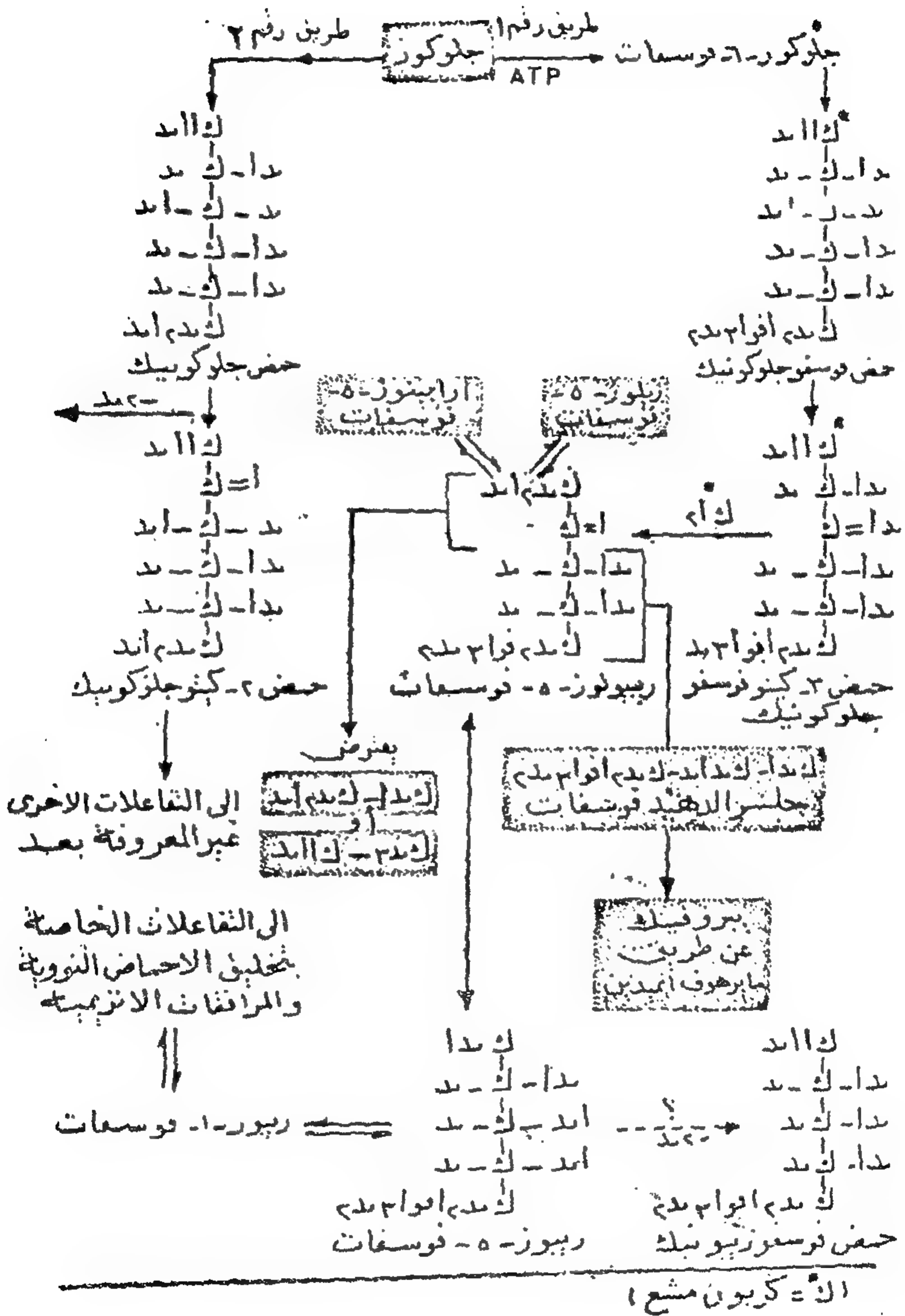
وهناك من الأدلة ما يثبت أن هذا الطريق هاماً في التحويلات الأيضية  
التي يقوم بها كثير من الكائنات الحية كما أنه الطريق الرئيسي للتحويلات الأيضية  
الكربوإيدراتية في بعض الكائنات الدقيقة .

وقد تم التعرف على هذه الحقيقة باستعمال جزيئات سكر جلو كوز  
يحتوى على كربون مشع (radioactive) فى الذرة رقم (١) ثم متابعة  
نخمره بواسطة الكائنات المختلفة . فى حالة البكتيريا *Leuconostoc sp* .  
التي تحول جلو كوز إلى كحول ايثايل وإلى حمض لاكتيك وثانى أكسيد  
كربون . أمكن متابعة الكربون المشع فى غاز ثانى أكسيد الكربون الناتج ،  
وليس فى جزيئات حمض اللاكتيك ، وأهمية هذا الطريق التأكسدى فى عمليات  
تحول الكربوايدرات الأيضية هو توفير السكر الخماسى (ريبوز) اللازم لتخليق  
الأحماض النووية أو المرافقات الأنزيمية اللازمة للخلية كما سنبين فيما بعد :

ويبين (شكل ١٠٧) طرق تكون سكر الريبوز وكذلك تكون المركب  
فوسفات جاسر الذهب الهام والذي يتحول عن طريق نظام ماير هوف ايمبدن  
إلى حمض بيروفيك .

وتأكسد مركب جلو كوز -٦- فوسفات إلى حمض فوسفو جلو كونيك  
أمكن التيقن من حدوثه حتى فى الكائنات التى يسود فيها نظام ماير هوف ،  
ايمبدن لهدم جلو كوز مثل خلايا الخميرة .

وقد اقترح حينئذ أنه بالرغم من أن الغالبية العظمى من جلو كوز تهدم  
عن طريق دورة الجليكوليسيز إلا أن كمية قليلة منه يمكنها أن تحول (shunted off)  
إلى حمض فوسفو جلو كونيك وذلك لأن المواد التى تنتج عن هذا الحمض  
تدخل فى تركيب مواد حيوية هامة للخلية . لذلك يطلق على هذا الطريق (شكل  
١٠٧ - ١) اسم تحويله الفوسفات الأحادى *monophosphate shunt* .  
وكما هو واضح من (شكل ١٠٧ - ١) فإن هذا الطريق يتطلب فسفرة  
الجلو كوز الذى يتأكسد فيما بعد متحولاً إلى حمض فوسفو جلو نيك (حمض  
جلو كونيك - ٦ - فوسفات) . والمركب الأخير يتأكسد مرة ثانية ليكون  
٣ - كينوفوسفو جلو كونيك والذي يفقد جزئ (ك<sub>٢</sub>) متحولاً إلى ريبولوز  
٥ - فوسفات *ribulose - 5-phosphate* . وذرة الكربون التى تفقد



شكل ١٠٧ : طرق التحولات الايضية للسكريات الخماسية Monophosphate shunt (طريق رقم ١) يبين التفاعلات التي تعرف بتحويله الفوسفات الأحادي .



على صورة (ك ١) هي الذرة رقم «١» من جزيء الجلو كوز المبتدىء به وقد أمكن التأكد من ذلك باستعمال النظائر المشعة كما سبق أن بينا .

والمركب ريبولوز — ٥ — فوسفات يكون في حالة توازن مع المركبات زيلوز — ٥ — فوسفات وكذا ريبوز — ٥ — فوسفات والمركب الأخير يعتبر ذو أهمية كبيرة نظراً لدخوله في عمليات أيضية بنائية أخرى بالخلية . وهذا التوازن المذكور يسمح باستغلال السكريات الخماسية pentoses ويوفر عديد من المركبات التخليقية ، ولايضاح ذلك نذكر أن المركب ريبوز — ٥ — فوسفات له علاقة بتخليق الأحماض النووية المحتوية عليه (RNA) ribose nucleic acids وكذلك المركبات المعروفة بالنيكليوسيدات nucleosides والتي تدخل في تركيب المرافقات الأنزيمية وغيرها كما سيلي في مكان آخر من هذا الباب .

ويحتمل أيضاً إمكانية تأكسد الريبوز — ٥ — فوسفات إلى حمض فوسفوريبوسوفيك phosphoribonic acid وأن هذا المركب يتأكسد ثانية ليكون مركب (٢ أو ٣ - كيتوفوسفوريبونيك) بطريق مماثل لأكسدة السكريات السداسية وتحولاتها إلى سكريات خماسية ، ونتيجة لذلك فإنه يمكن الحصول بهذا الطريق على مركبات تحتوي على أربع ذرات من الكربون وبالمثل يمكن أيضاً تكون مركبات تحتوي على ثلاث ذرات من الكربون وأخرى تحتوي على ذرتين وهكذا .

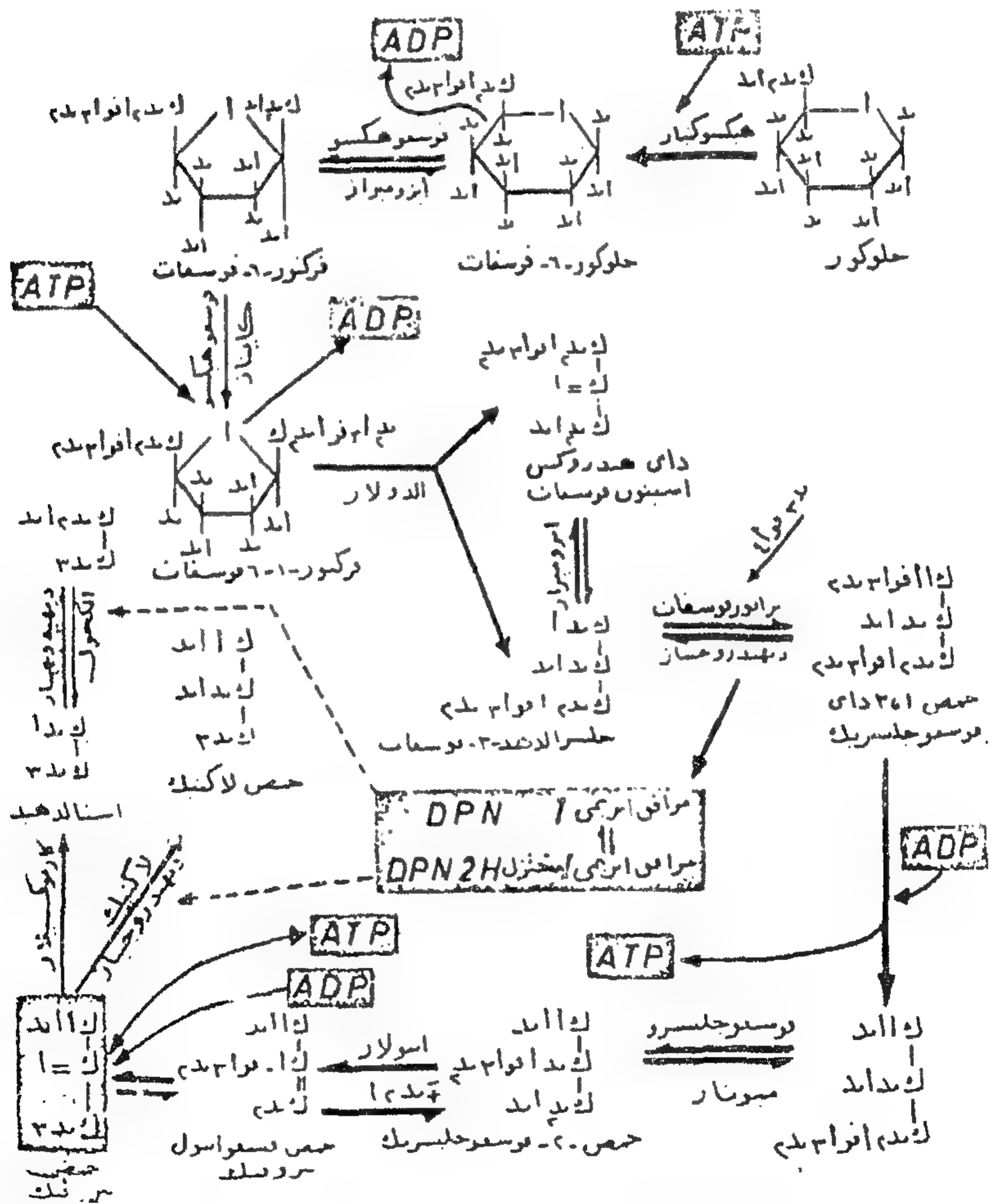
ومما يزيد احتمال حدوث مثل هذا الطريق بالبكتيريا هو حدوث انكسار للمركب ريبوز — ٥ — فوسفات إلى مركب ذو ذرتين من الكربون يبدو أنه حمض الخليك وآخر ذو ثلاث ذرات كربونية هو ٣-جلسرالدهيد فوسفات . وبالرغم من التعرف على بعض التفاعلات التي يتضمنها هذا الطريق إلا أن الكثير منها لا يزال مجهولاً .

وعلى ضوء ماتقدم فإنه يمكن القول بأن الطريق رقم (١) (شكل ١٠٧) يتم في كثير من الكائنات البكتيرية ويبدو أنه الطريق الرئيسي في التحولات الأيضية للكربوايدرات في بعض الكائنات البكتيرية وأهمها البكتيريا التابعة للجنس *Leuconostoc* والتي يمكنها تحت ظروف غير هوائية أن تكون (١) جزىء حمض لاكتيك + ١ جزىء كحول ايثايل + ١ جزىء ك<sub>٢</sub> (من جزىء الجلو كوز . فإذا علمت ذرة الكربون الأولى من جزىء الجلو كوز ( بكربون مشع ) فإن الكربون المشع يمكن متابعته فقط في ( ك<sub>٢</sub> ) وليس في الكحول أو حمض الخليك . وإذا بدأ التخمر باستعمال جلو كوز معلّم ( labled ) في ذرتيه رقم « ٣ » ، « ٤ » فإنه لا يمكن متابعة الكربون المشع في ثاني أكسيد الكربون الناتج ولكنه يظهر في جزىء حمض اللاكتيك ( الذرة رقم « ٤ » ) أو في كحول الايثايل ( ذره رقم « ٣ » ) . وهذا لا يحدث في التفاعلات الخاصة بنظام مايرهوف ايمبدن ، الأمر الذي يؤيد سيادة طريق تحويله للفوسفات الأحادية *monophosphate shunt* على الأقل في هذه البكتيريا .

وفي حالة بعض الكائنات يمكن للجلو كوز أن يتأكسد إلى حمض بدون أن تتضمن عمليات فسفرة ( شكل ١٠٧ - ٢ ) . ومن ضمن هذه الكائنات البكتيريا التابعة للجنس *Pseudomonas* حيث يمكن الحصول على مستخلصات خلوية يمكنها أكسدة الجلو كوز غير المفسفر إلى حمض جلو كونيك علاوة على قدرتها على أكسدة الجلو كوز المفسفر أيضاً إلى فسفو جلو كونيك . وقد أمكن فصل الإنزيمات الخاصة لكل حالة وأمكن معرفة أن حمض الجلو كونيك المتكون من الجلو كوز غير المفسفر ، يتحول إلى حمض ٢ - كيتو جلو كونيك والذي يتكسد بالبيئة . والمركب الأخير لا يتأكسد ولا يتحول إلى مركبات أخرى أو قد تكون تفاعلاته الأخرى لا زالت مجهولة وبذلك لا يمكن الحكم على أهمية هذا الطريق للخلايا .

ونظراً لأهمية طريق مايرهوف ايمدين في هدم الجلوكوز . غير هوائياً فالأمر يقتضى مناقشتها بشيء من التفصيل .

تتميز خلايا الخميرة والبكتيريا وكذلك خلايا العضلات الحيوانية بهدم سكر الجلوكوز غير هوائياً وتحويله إلى حمض بيروفيك ويشمل هذا النظام مجموعة من التفاعلات الانزيمية المختلفة المبينة ( بشكل ١٠٨ ) والآتي تفصيلها :



شكل ١٠٨ : الخطوات المختلفة لتخمير سكر الجلوكوز بواسطة خلايا البكتيريا وخلايا الخميرة وخلايا الأنسجة الحيوانية (نظام مايرهوف ايمدين) .

١ — يبدأ هذا النظام بحدوث تفسفر لجزيئات الجلوكوز ليتحول إلى جلوكوز - ٦ - فوسفات ويساعد في هذا التفاعل انزيم الهيكسو كانيياز الذى ينقل مجموعة فوسفورية من المركب ادينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) إلى جزيئات الجلوكوز عند ذرة الكربون رقم « ٦ »

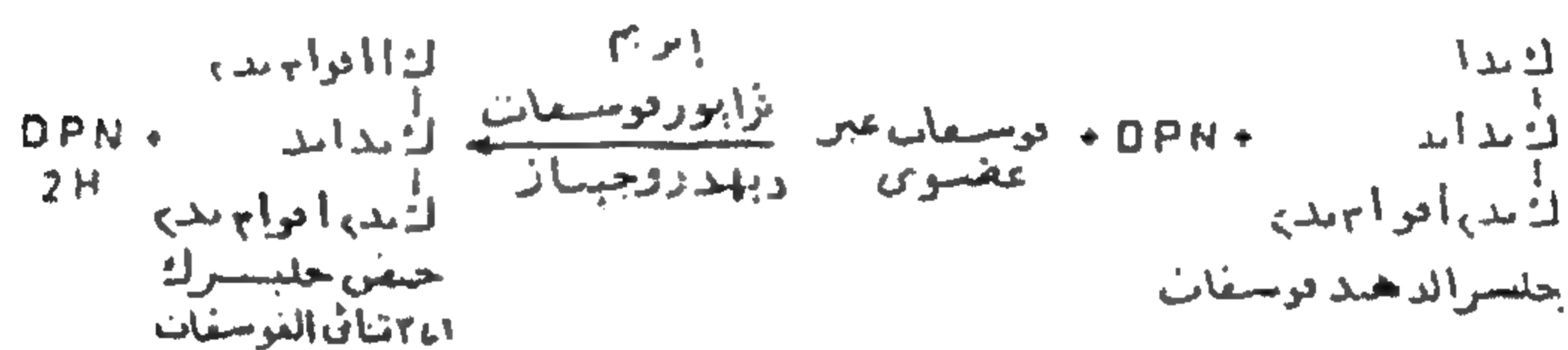
٢ — المركب جلوكوز - ٦ - فوسفات الناتج يتحول نتيجة لتغير في تركيبه الحلقى إلى مركب آخر يعرف باسم فوكتوز - ٦ - فوسفات ويساعد في هذا التغير نوع من الأنزيمات يعرف باسم فوسفوهيسكوز ايزاميراز phosphohexose isomerase

٣ — تضاف مجموعة فوسفورية أخرى إلى المركب فوكتوز - ٦ - فوسفات متحولاً إلى فوكتوز ١ - ٦ - فوسفات ويساعد في هذا التفاعل نوع آخر من أنزيمات الفسفرة يعرف باسم فوسفوهيكسو كانيياز phosphohexokinase والذى يقوم بنقل مجموعة فوسفاتية من جزيء ATP جديد إلى الذرة الكربونية رقم « ١ » من المركب - ٦ - فوسفات . ونتيجة للخطوات السابقة يتكون مركب هيكسوز ثنائى الفوسفات hexosediphosphate من جزيء الجلوكوز ، حيث يستهلك جزيئين من جزيئات مادة الأدينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) وينطلق نتيجة لذلك جزيئين من الأدينوسين ثنائى الفوسفات (ADP).

٤ — يعقب ذلك أن ينشق جزيء الهكسوز ثنائى الفوسفات مكوناً مخلوطاً متوازناً من مركبين كل منهما يحتوى على ثلاث ذرات من الكربون ألا وهما مركب داي هيدروكسى اسيتون فوسفات dihydroxyacetone phosphate جلسر الدهيد فوسفات glyceraldehyde phosphate . ويساعد على حدوث هذا الانشقاق الانزيم المعروف باسم الالدولاز aldolase . والمركبين الناتجين يتحول كل منهما إلى الآخر بمعنى أن يحدث بينهما توازن بمساعدة نوع معين من الانزيمات المعروفة باسم ( isomerases ) وحيث أنه في عمليات التخمر يتحول المركب جلسر الدهيد - فوسفات إلى مركبات أخرى كما هو

مبين ( بشكل ١٠٨ ) ، فان انزيم الاليزوميزار يحول مزيدا من المركب الآخر ( داي هيدروكسي اسيتون فوسفات ) إلى جلسر الدهيد فوسفات بمعنى ان كل مركب الهكسوز داي فوسفات يتحول في النهاية إلى جلسر الدهيد فوسفات .

٥ - المركب جلسرالدهيد فوسفات يتأكسد إلى حمض جلسريك ١ ، ٣ ثنائي الفوسفات نتيجة لنشاط الأنزيم triosephosphate dehydrogenase الذى يتطلب وجود مرافقه الأنزيمى وهو [ المرافق الأنزيمى I ( DPN ) ] عند توفر الفوسفات غير العضوى . والمركب الناتج عن عملية الأكسدة هذه هو ( حمض ١ - ٣ داي فوسفو جلسريك ( 1.3 diphosphoglyceric acid ) الذى يتكون طبقاً للمعادلة التالية :



والموافق الأنزيمي المختزل (DFN<sub>2H</sub>) يمكن استعماله كمعطى للإيدروجين في التفاعلات الأخرى المحتاجة إلى إيدروجين كما هو مبين (بشكل ١٠٨ .)

٦ - يتحول حمض الجلوسريك ١ - ٣ ثنائى الفوسفات الناتج إلى حمض جلوسريك أحادى الفوسفات phosphoglyceric acid - 3 عن طريق فقده لأحد الجاميع الفوسفاتية واعطائها إلى حمض الأدينيليك adenylic acid أو الأدينوسين ثنائى الفوسفات (ADP) ويتكون بذلك جزئ الأدينوسين ثنائى الفوسفات (ADP) أو أدينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) على الترتيب فى وجود انزيمات معينة . وبالتالي فاننا نجد أن هذه الخطوة من سلسلة التفاعلات لها مميزات ثلاث :

(١) أكسدة الجلوسرالدهيد فوسفات إلى حمض جلوسريك منسفر .



(ب) تكون مرافق إنزيمى مختزل يستعمل كمعطى للايدروجين فى التفاعلات المحتاجة اليه .

(ج) تحويل الفوسفات المعدنى إلى فوسفات عضوى فى صورة روابط غنية بالطاقة فى جزيئات (ATP) .

٧ — تنتقل مجموعة الفوسفات من الذرة رقم ٣ من جزيء حمض الجلوسريك — ٣ — أحادى الفوسفات 3-phosphoglyceric acid إلى الذرة رقم « ٢ » متحولاً إلى حمض جلسريك — ٢ — أحادى الفوسفات 2-phosphoglyceric acid . ويساعد على هذا الانتقال انزيم يعرف باسم phosphoglyceromutase .

٨ — يتحول المركب 2-phosphoglyceric acid الناتج ، عقب فقد جزيء ماء إلى حمض البيروفيك الأينولى المسفر phosphoenol pyruvic acid ويساعد فى هذه العملية إنزيم يعرف باسم اينولاز enolase . ويتطلب هذا الانزيم مرافقات انزيمية مثل أيونات المغنسيوم أو المنجنيز أو الزنك إلا أنه يتوقف عن النشاط فى وجود الفلوريدات ، ومثل هذه الخاصية أمكن استغلالها فى دراسة هذا النظام . فاذا لقحت بيئة محتوية على سكر الجلوكوز بميكروب وأضيفت كمية من الفلوريدات ، فإن سلسلة التفاعلات قد تتم إلى تكوين حمض الفسفوجلوسريك فقط وهذا المركب يتكدس بالبيئة ويمكن التعرف عليه .

٩ — تنتقل مجموعة الفوسفات من المركب phosphoenol pyruvic acid إلى حمض الأدينيليك ( أدينوسين أحادى الفوسفات AMD ) أو إلى جزيء أدينوسين ثنائى الفوسفات ويتكون بذلك جزيء أدينوسين ثنائى الفوسفات (ADP) أو أدينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) جديد على الترتيب ، ومركب آخر هو الصورة الأنىولية من حمض البيروفيك . وحيث أن الصورة الأنىولية

من هذا الحمض تكون في حالة توازن كيمائى مع الصورة الكينونية منه بدون تدخل إنزيمى فان الصورة الكيتونية تكون هى السائدة دائماً .

ومما سبق يتضح أن لكل جزيء جلو كوز يهدم عن طريق غير هوائى يستهلك جزيئين من الفوسفات فى صورة ( ATP ) وينتج عن ذلك أربع جزيئات ( واحدة لكل جزيء من حمض ١ ، ٣ داي فوسفو جلسريك . وواحد لكل جزيء من حمض البيروفيك الأنولى المفسفر ) .

وفى حالة خلايا العضلات فان حمض البيروفيك المتكون يتحول إلى حمض اللاكتيك بمساعدة الانزيم lactic dehydrogenase الذى يعمل بطريقة عكسى ومستغلا المرافق الانزيمى المختزل (  $DPN_2H$  ) كمعطى للايدروجين اللازم للتفاعل :

من ذلك نرى أن أكسدة المركب جلسر الدهيدفوسفات واختزال حمض البيروفيك تكون مرتبطة ببعضها عو طريق المرافق الأنزيمى ( DPN ) الذى يعمل كناقل للايدروجين بين التفاعلين .

وفى خلايا الخميرة يتحول حمض البيروفيك إلى اسيتالدهيد عن طريق فقد جزيء ثانى أكسيد كربون نتيجة لعملية decarboxylase بفعل أنزيم pyruvic decarboxylase . والاسيتالدهيد الناتج يختزل إلى كحول ايثايل بمساعدة الإنزيم alcohol dehydrogenase الذى يعمل بطريقة عكسى مستغلا أيضا المرافق الأنزيمى المختزل (  $DPN_2H$  ) بطريقة مشابهة لتكوين حمض اللاكتيك فى خلايا العضلات .

وقد لوحظ أن غالبية البكتيريا لا يمكنها هدم الجلو كوز غير هوائى فى غياب الفوسفات مما يدل على أن مثل هذه السلسلة من التفاعلات تعنى تكوين حمض البيروفيك تحدث أيضاً بالبكتيريا . وبالرغم من ذلك فانه لم تعزل إلى الآن الإنزيمات الخاصة بفسفرة الجلو كوز من خلايا البكتيريا وقد

وجد حديثاً أن البكتيريا *E. coli* يمكنها أن تخمر مركب الفركتوز ثنائى الفوسفات مكونة نواتج تفاعل مشابهة تماماً لتلك الناتجة عن تخمير سكر الجلوكوز مما يدل على وجود أنزيمات الفسفرة بهذه الخلايا ، وعلاوة على ذلك فإنه عند تخمير الجلوكوز تستهلك كمية من الفوسفات المتواجدة بالبيئة ، وعند اضافة فلوريدات الصوديوم إلى البيئة ، كما سبق أن بينا ، فإنه يمكن عزل حمض الفوسفو جلسريك من البيئة كنواتج نهائى نتيجة لتوقف أنزيم الأنيلولاز .

كل هذا قد يبين أن سلسلة التفاعلات السابق وصفها والتي تتم بخلايا الخميرة وخلايا العضلات تحدث أيضاً بخلايا البكتيريا *E. coli* . وباستعمال الطرق المختلفة للحصول على الأنزيمات المدرجة فى دورة التفاعلات الخاصة بنظام مايرهوف ايمبدن من خلايا *E. coli* ، أمكن التعرف على نشاط الأنزيمات والمرافقات الأنزيمية التالية فى مثل هذه الخلايا : ( انزيم الالدولاز وأيزوميراز وجلسر الدهيد فوسفات ديهيدروجيناز وفوسفو جلسر وميوتاز واينولازولاكتيك ديهيدروجيناز و DPN والايدينوسين ثلاثى الفوسفات ) .

انطلاق الطاقة :

ان تكوين حمض البيروفيك من سكر الجلوكوز عن طريق دورة مايرهوف ايمبدن يقتضى انطلاق طاقة تكون ميسرة للخلايا لأغراض نموها المختلفة . وهذه الطاقة يمكن للخلايا من استغلالها فى عمليات البناء وغيرها من العمليات الحيوية اللازمة للخلية وتيسر هذه الطاقة نتيجة لتكسير الروابط الفسفورية المختلفة : ومحتويات الروابط الفسفورية من الطاقة تختلف باختلاف نوع الرابطة المحتوية عليها . فمثلا الرابطة الأسترية من الفوسفات مثل تلك المتواجدة فى المركب هيكلوز ثنائى الفوسفات ( - ك ي د ٣ ا ف و ا ٣ ي د ٣ ) ينطلق عنها كمية من الطاقة ( ٣,٠٠٠ سعر / جرام جزئى ) تكون أقل من تلك الناتجة عند تكسير الروابط الأنوليوية من الفوسفات مثل تلك المتواجدة فى

حمض البيروفيك الأنولي المفسفر ( — ك١ ف١ ا٣ يد ٣ ) حيث أن الأخيرة تعتبر رابطة أغنى في محتوياتها من الطاقة اذ ينطلق عند تكسيرها ما يقرب من ١٢,٠٠٠ سعراً / جرام جزىء .

من ذلك نرى أن الجلو كوز يتفسفر على درجات منخفضة من الطاقة إلى مركب الهكسوز ثنائى الفوسفات وأن هذه الطاقة تزداد باستمرار التفاعلات لتعطى فى النهاية روابط غنية بالطاقة فى حمض البيروفيك الأنولي المفسفر .

ومن المعروف أن الطاقة لا تحدث من العدم وأن كل من حمض الفوسفو جلسريك وحمض البيروفيك الأنولي المفسفر يحتوى على روابط غنية بالطاقة . وحيث أن طاقة المركب الأول تتوزع على كل الجزىء فاننا نجد أن الطاقة بالمركب الثانى تكون مركزة فى الرابطة الفوسفورية .

ويتكون اثناء هذه الدورة رابطة فوسفاتية أخرى غنية بالطاقة وهى التى تنشأ أثناء أكسدة المركب جلسر الدهيد فوسفات فى وجود الفوسفات المعدنى ( الخطوة رقم ٤ ) .

فاذا استعرضنا سلسلة التفاعلات السابق وصفها من ناحية تكون الروابط الفسفورية ( شكل ١٠٩ ) فاننا نرى أن عملية فسفرة الجلو كوز مبدئياً لتكون هيكسوز ثنائى الفوسفات تقتضى استعمال جزيئين ATP . وأن جزىء الهيكسوز ثنائى الفوسفات ينقسم فيما بعد ليكون جزيئين من مركبات ثلاثية الكربون ومفسفرة triosephosphate كل منها يتحول إلى جزىء حمض بيروفيك مع انفصال جزيئين من ATP بمعنى أن جزيئين ATP تلزم لبدء دورة التفاعلات التى تنتج عنها أربع جزيئات ATP .

ان الروابط الفسفورية فى جزىء ATP تعتبر روابط غنية بالطاقة ويبدو أن ATP تعتبر الصورة التى تخزن بها الطاقة بالخلايا حين الحاجة اليها .

ومن المعروف أن العمليات البنائية بالخلية تتطلب طاقة يمكن التحصل







### تفاعلات حمض البيروفيك :

حمض البيروفيك الناتج من عمليات هدم الجلوكوز (سواء ذلك الناتج عن طريق الجليكوليسيز أو الذي ينتج مختلطاً مع مركب آخر نشط يحتوي على ذرتين كربون عن طريق تحويله الفوسفات الأحادي يعتبر مركزاً لعدة تفاعلات أيضاً أخرى تقوم بها الخلايا عن طريق تفاعلات مختلفة (شكل ١١٠).

من الملاحظ أن هناك خمس طرق رئيسية يهدم عن طريقها حمض البيروفيك وهي تتلخص فيما يلي :

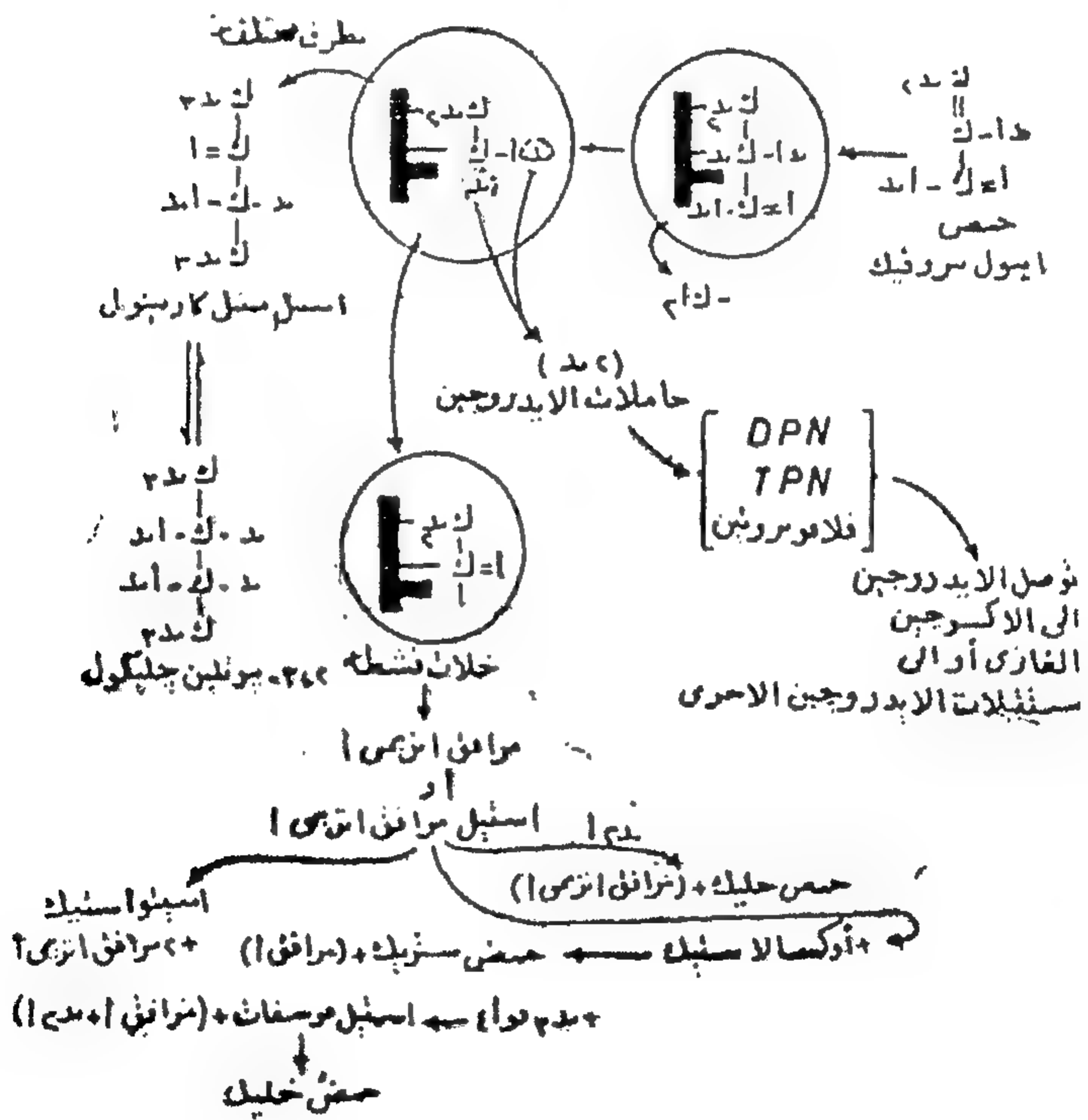
الطريقة الأولى : تختزل حمض البيروفيك إلى حمض لاكتيك ويقوم بهذا التفاعل أنزيم يعرف باسم lactic dehydrogenase وفي حالة الظروف غير الهوائية فإن الهيدروجين اللازم يتحصل عليه من المرافق الأنزيمي المختزل (  $DPN_{2H}$  ) الناتج من عملية الجليكوليسيز .

الطريقة الثانية : يثبت بجزء حمض البيروفيك جزئ ( ك ا ) عن طريق عملية carboxylation ليتكون منه حمض أوكسالاستيك بمساعدة الأنزيم oxalacetate decarboxylases ويبدو أن هناك أكثر من أنزيم واحد من هذا النوع . والمركب الناتج من هذا التفاعل يعتبر أحد المركبات الوسيطة في دورة حمض الستريك .

الطريقة الثالثة : ينفصل جزئ ( ك ا ) عن حمض البيروفيك نتيجة لعملية decarboxylation ليكون مركب وسطي نشط يتكون من ذرتين من الكربون كما يتبين من ( شكل ١١١ ) . من المعروف أن الصورة الاثيولية من حمض البيروفيك يمكنها أن تدمص على البروتين الأنزيمي وينفصل ( ك ا ) تاركا مركباً وسطياً ذو ذرتين من الكربون يظل متصلاً بالبروتين الأنزيمي . وهذا المركب الوسطي يمكن أن يتكسد منه جزيئين ليكون المركب

المعروف استيل مثيل كاربينول . ولكن في الأحوال العادية تنفصل عنه أيضا ذرتين ايدروجين تنتقل إلى حوامل ايدروجينية مثل DPN أو TPN أو الفلافوبروتين . المركب المؤكسد المتبقى والذي يظل متصلا بالبروتين الأنزيمي يدخل في تركيب المرافق الأنزيمي « أ » ( coenzyme A ) والآخر يتحول إلى الصورة الأستيلية ( acetyl coenzymeA ) والذي يتدخل في مجموعة من التفاعلات الأخرى التي من شأنها تخليق الأحماض الدهنية ( شكل ١١١ ) .

والنتيجة النهائية لهذه الطريقة هو أن حامض البيروفيك يتحول إلى مركب وسطي ذو ذرتين من الكربون ويحتمل أن يتكون مركب معقد منه مع الأنزيم . ومن المعروف أن مثل هذه التفاعلات تتطلب فيتامين « ب ١ » ولكن في



شكل ١١١ : تفاصيل بعض التفاعلات المعدنية للتحويلات الأيضية لحامض البيروفيك . لاحظ طرق تكون التراكيبات النشطة والمرافق الأنزيمي (طريقة رقم ٣ شكل ١١٠) .

بعض الكائنات يبدو أن هذا المركب يتحد ببعضه مكوناً استيل مثيل كاربينول المعروف أحياناً باسم ( acetoin ) واختبار تكون هذا المركب الأخير نتيجة لتخمير الجلوكوز يكشف عليه باختبار فوجس بروسكاور Voges Proskauertset يعتبر من الطرق التفريقية أو التصنيفية الهامة .

والمرافق الأنزيمي « ١ » acetylated coenzyme A السابق الإشارة إليه يمكنه أن يترك سطح الأنزيم بعد تكونه . ويتفاعل مع الفوسفات مكوناً مركب يعرف باسم استيل فوسفات وهذا يساعد في تكوينه الأنزيم transacetylase ، والذي يتفاعل مع الأكسالاستيك ليتكون نتيجة لذلك حمض الستريك .

ومركب الاستيل فوسفات هذا يمكنه أيضاً أن ينتشر ويتحد جزيئين منه معاً ليكونا مركباً آخر هو حمض الأسيتواسستيك acetoacetic cid ( شكل ١١٠ ) .

وهناك اقتراح بأن جزيئين من المرافق الأنزيم ( Co,A ) في صورتها الأسيتيلية يتحدان ببعضهما ليتكون منهما جزيء واحد من حمض السكسينيك إلا أن مثل هذا التفاعل غير مؤيد بعد .

#### تفاعلات حمض الأسيتواسستيك :

هناك بعض الأنزيمات البكتيرية التي يمكنها أن تختزل حمض الأسيتواسستيك إلى حمض البيتاهايدروكسي بيوتيريك والأخير يمكنه أن يتحول إلى كحول بيوتاييل ، ولكن هناك من الأدلة على أن حمض على البيتاهايدروكسي بيوتيريك ليس مركباً وسطياً في هذه التفاعلات . حيث أنه يعمل فقط كمادة أولية في تجهيز كحول الأيزوبروباييل ( شكل ١١٠ ) .

وكذلك يمكن للمركب استيواستيك أن يفقد ( ك ١٠ ) ويتحول إلى أسيتون ويبدو أن الأسيتون الناتج بهذه الطريقة لا يختزل ليكون كحول ايزوبروباييل حيث أن الاختزال يحدث للاستيواستيك قبل انفصال ( ك ١٠ ) .

### تفاعلات حمض الستريك :

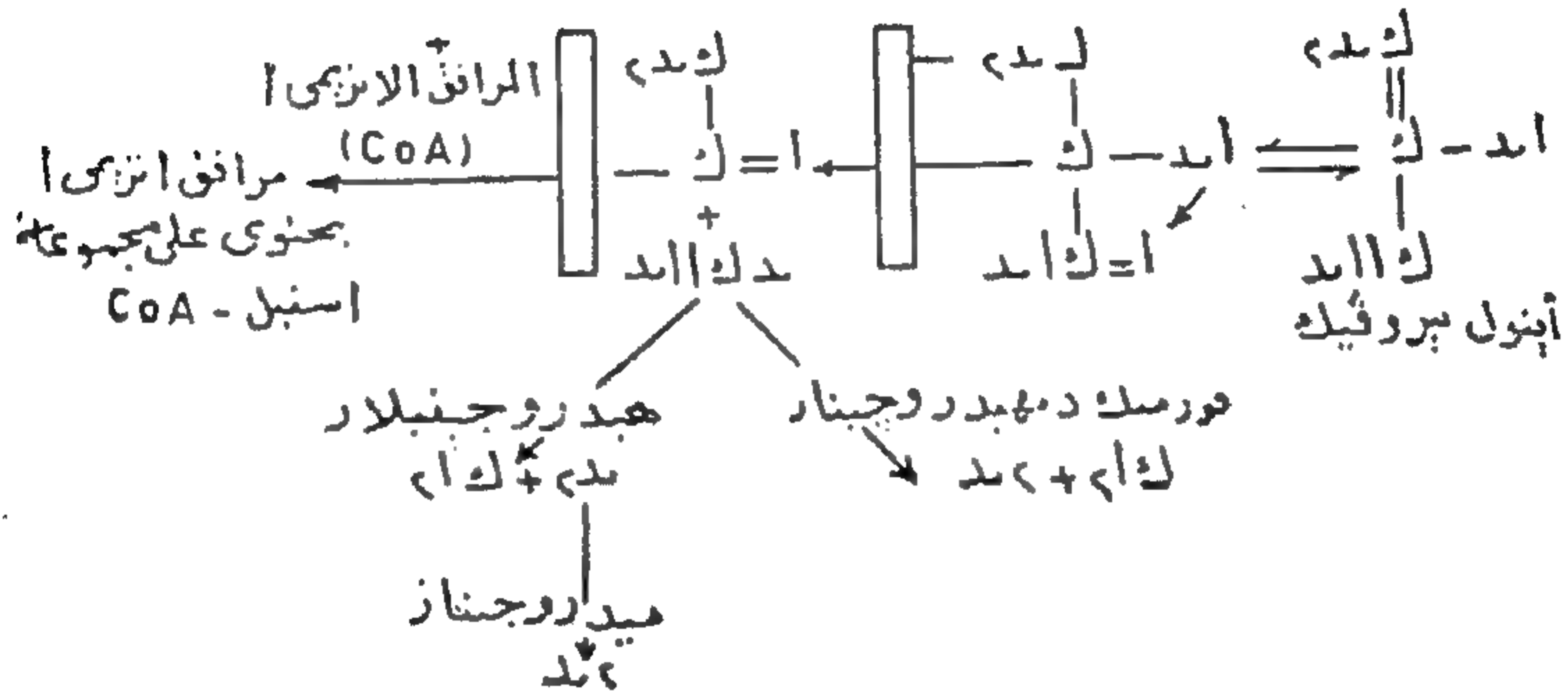
هذه التفاعلات تكون ما يعرف بدورة حمض الستريك . وحدث هذه الدورة بخلايا البكتيريا ظل من الأمور التي أثارت كثيراً من الجدل لفترة طويلة . واما آثار كثير من الجدل والشك أن كثيراً من المركبات التي تحويها هذه الدورة غير قابلة للنفاذ خلال الجدر البكتيرية بالرغم من إمكان التعرف عليها بداخل الخلايا . ويمكن لها أن تتحول بالطريقة المبينة ( بشكل ١١٠ ) . ومن أهم هذه التفاعلات تلك التي يتحول فيها حمض السكسينيك عن طريق فقدته لجزء ( ك ا ٢ ) decarboxylation إلى حمض بروبيونيك . وقد وجد أن هذا التفاعل يتم بمساعدة أنزيم يتواجد فقط في أنواع البكتيريا التابعة لجنس *Propionibacterium* .

الطريقة الرابعة : وفيها يتحول حمض البيروفيك إلى أسيتالدهيد نتيجة لعملية decarboxylation . وهذه العملية قليلة الأهمية في البكتريات ولكنها مهمة في حالة خلايا الخميرة حيث أن ذلك هو الطريق الرئيسي لتكوين كحول الايثانول . وهناك بعض الأدلة على أن بعض البكتريات يمكنها اختزال حمض الخليك محولة إياه إلى كحول ايثانول الا أنه لم يتم بعد دراسة تفاصيل هذه العملية ، في حين أنه من المعروف أن الأسيتالدهيد المتكون بواسطة خلايا الخميرة يمكنه أن يتأكسد إلى حمض خليك .

الطريقة الخامسة : يمكن لجزء حمض البيروفيك أن ينقسم إلى قسمين أحدهما عبارة عن جزء مكون من ذرتين من الكربون ( حمض خليك ك يد ٣ - ك ا ا يد ) والثاني عبارة عن جزء مكون من ذرة كربونية واحدة ( حمض فورميك ك ا ا يد ) وعادة يعرف هذا التفاعل باسم phosphorocalstic reaction . ويتميز هذا التفاعل بإنتاج حمض الفورميك . والمرافق الأنزيمي « ا » المحتوي على مجموعة أستيل ( acetyl Co. A ) يؤدي دوراً وسطياً في هذا التفاعل وذلك في وجود أنزيم يعرف باسم acetyl



transphosphorylase ويتكون لفعل هذا الأنزيم مركب يعرف باسم acetylphosphate ، وقد اشتق اسم التفاعل المسمى phosphoroclastic من هذه العملية وكانت تعرف باسم hydroclastic قبل التعرف على دور الفوسفات بها .



وحمض الفورميك الناتج يمكنه أن يتأكسد إلى ( ك ا ) وaidروجين والأخير يذهب إلى المركبات الحاملة للأيدروجين مثل DPN أو TPN أو ( الفلافوبروتينات ) ويحدث ذلك بفعل انزيم ديهيدروجينيلار .

بعض الكائنات تحتوي أيضا على نوع من الانزيمات التي تعرف باسم الهيدروجينيلار والتي يمكنها أن تنقل غاز الايدروجين إلى مواد حاملة للأيدروجين مجهولة غير متعرف على طبيعتها ، والايدروجين المنقول بهذه الطريقة يمكنه أن يتفاعل مع الأكسجين ليكون ماء أو قد يستعمل في اختزال بعض المواد الأخرى مثل حمض البيروفيك محولا أياه إلى حمض لاكتيك ومن المقطوع به أنه إذا تكونت غازات أثناء عملية التخمر فإنها تأتي من أكسدة حمض الفورميك ، ويشذ عن ذلك التعميم حالة واحدة فقط . ففي حالة تخمرات أنواع جنس *Clostridium* فإنها تمتلك انزيمات مشابهة يمكنه تحويل حمض البيروفيك إلى acetyl - Co A + يد + ك ا مباشرة بدون تكون لحمض الفورميك كمركب وسطي .

وعموما فان حمض الفورميك لا يمكن اعتباره من المخلفات المستغنى عنها بل يمكن له أن يدخل فى تفاعلات أخرى هامة مثل تلك التى يتحد فيها مع حمض الجليسين الأمينى ليتكون منهما حمض سيرين ( فورميك + جليسين ← سيرين ) والأخير قد يدخل فى تكوين البروتينات أو فى تكوين البيورينات وبذلك فهو يستخدم فى العمليات البنائية الخلوية .

مما سبق تبين لنا الخمس طرق التى يمكن أن يتحول عن طريقها حمض البيروفيك الناتج من عملية التخمر ولا حظنا أن لكل طريقة انزيمات الخاصة والتى أمكن عزلها والحصول عليها فى صور نقية . كما أمكن التأكد من طبيعة النشاط الأنزيمى فى عمليات التخمر لكل منها باستعمال النظائر المشعة . كل هذا لا يعنى اننا نعرف الآن كل شىء عن التحولات الايضية للكربوايدرات فى خلايا البكتيريا ولكننا إلى حد ما نكون بذلك قد تعرفنا على معظم التفاعلات الايضية للمواد الكربوايدراتية .

### العمليات البنائية للكربوايدرات

إن كل ما سبق من تفاعلات كانت خاصة بالعمليات الهدمية للكربوايدرات . والخلايا البكتيرية أو الخلايا الحية عموما تستهلك الكربوايدرات لهدفين رئيسيين ، الأول : الحصول على الطاقة وقد ناقشنا ذلك بشىء من التفصيل . والثانى : لغرض تخليق بعض المواد التى تحتاجها الخلايا لبناء مواد معقدة تتركب منها أجسام الخلية نفسها .

ومن الحقائق الثابتة والواضحة أن البكتيريا ليست متشابهة فى الطرق الرئيسية التى تتبعها للحصول على الطاقة أو فى تكوين المواد اللازمة لبناء خلاياها .

ولبيان الطرق المختلفة التى تتبعها بعض الأنواع البكتيرية رأينا لغرض التسهيل وعدم التكرار إتخاذ رموز للمواد وللتفاعلات المختلفة وهى كما يلى :

ج = جلو كوز ، بيرو = بيروفيك ، ( م ١ ) = يرمز إلى المركب الوسطى  
المكون من ذرتين من الكربون والذي يتحول إلى خلايا أو acetyl-- Co A.

( ج - بيرو ) = نظام مايرهوف ايمبدن  
[ ج - بيرو + ( م أ ) = نظام تحويله الفوسفات الاحادى  
= دورة حمض الستريك

( م ١ ) = مركب يحتوى على ذرتين من الكربون  
( ٤ ) = تكديس جزيئين من المركب ذو الذرتين الكربونيتين ليتكون منها  
المركب اسيتواسيتات ، وما يعقبه من تفاعلات .  
وبهذه الرموز يمكننا أن بين الآن التفاعلات التي يحدثها أى نوع بكتيرى  
باختصار :

— ١ — *Streptococcus faecalis*

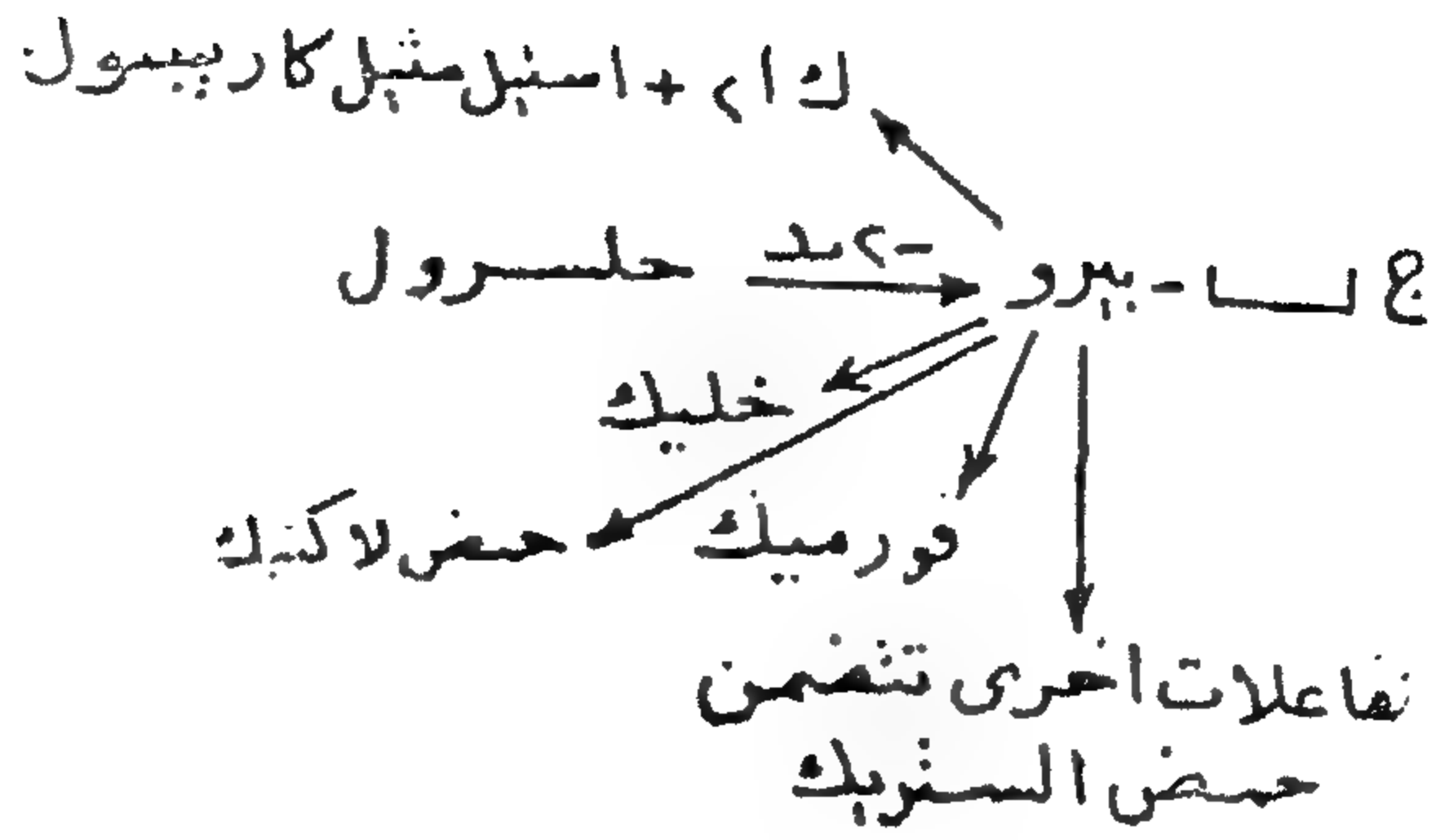
( ج - بيرو ) ← حمض لاكتيك

تقوم هذه البكتيريا بإنتاج حمض اللاكتيك في غياب الهواء تماما كما  
يحدث في وجوده . وإلى عهد قريب كان يظن أن هذه البكتيريا لا تقوم إلا  
بالتفاعل المذكور ولكن وجد أنه يمكن أن تقوم أيضا بما يأتي من تفاعلات :

استيل ميثيل كاربينول  
( ج - بيرو ) ← خليك + فورميك

جلوسرول ← ج - بيرو ← حمض لاكتيك

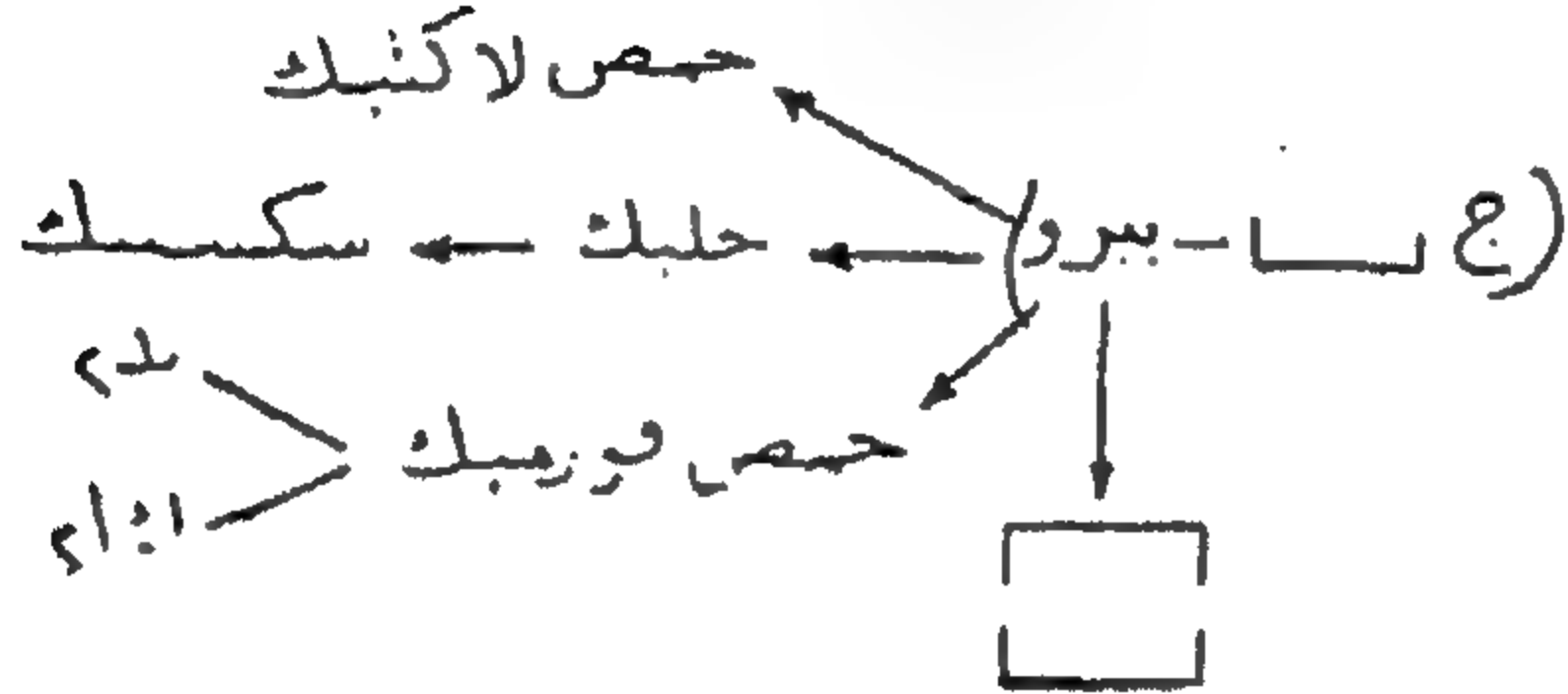
من ذلك ترى أن هذا النوع البكتيرى يقوم بالآتى :



٢ - Leuconostoc mesenteroides

(ج - ل - برو) + (١٢) + ك ا

٣ - Escherichia coli



٤ - Clostridium pasteurianum

(ج - ل - برو) - (١٣) - (٤)

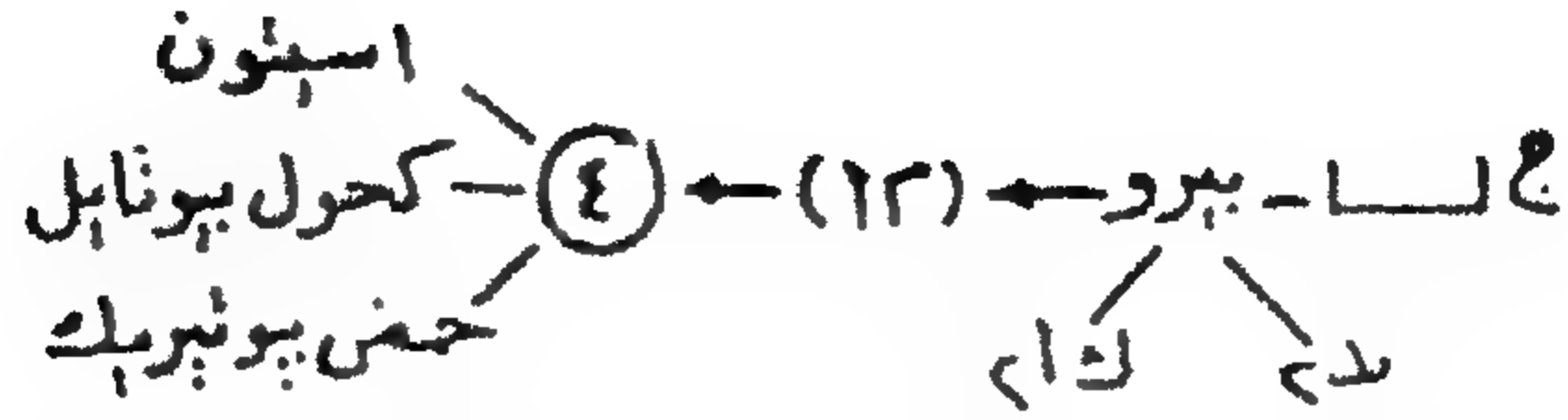
٥ - Aerobacter arogenes

تشبه طرق *E coli* الا أنه ينتج مادة الاسنيل مثيل كاربينول التي يمكن الكشف عنها باختبار فوجس بروسكار Voges Proskauer ويتلخص هذا الاختبار في إضافة قلوى قوى للمزرعة البكتيرية بعمر ٢٤ ساعة نامية في بيئة محتوية على جلوكوز - بيتون . وفي حالة التفاعلات الموجبة لهذا الاختبار

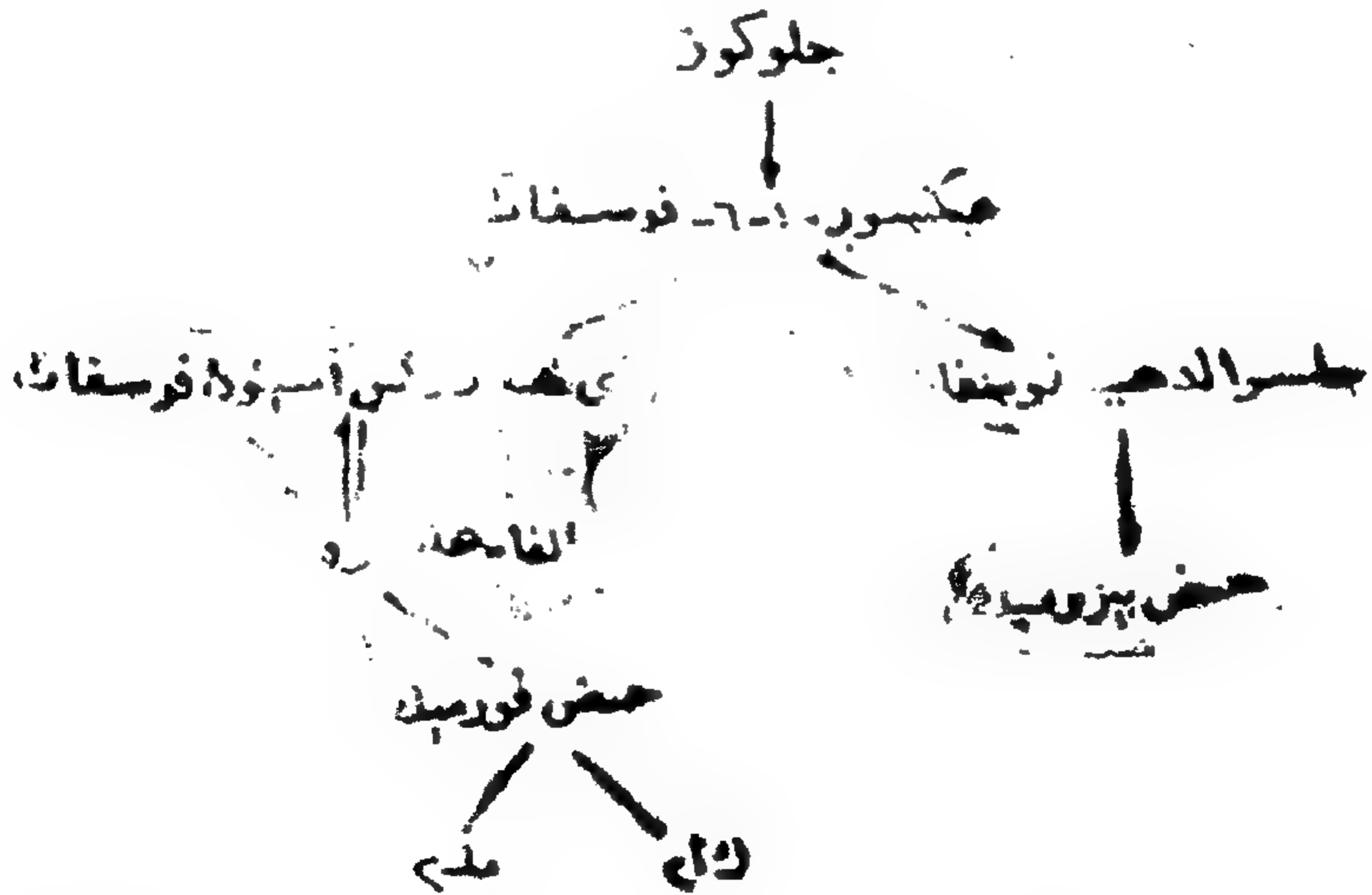




*Clostridium acetobutylicum* — ٨



من الواضح أن البكتيريا *Cl. acetobutylicum* عندما تخمر حمض البيروفيك يتكون غازى الايدروجين وثانى أكسيد الكربون ، وحمض الخليك ، وآثار من حمض البيوتيريك وكلا من كحول الايثايل والبيوتاييل وكذا مركب الاسيتون . والطريقة التى يتكون بها كحول الايثايل تختلف عن تلك الخاصة بالخميرة ، ففي هذه البكتيريا وفى بعض البكتيريات التابعة لمجموعة ( coli - aerogenes group ) يتكون كحول الايثايل عن طريق مركب Dihydroxyacetone phosphate الناتج من انقسام جزىء الهكسوزداى فوسفات الذى يمكنه أى يختزل إلى المركب الفاجلسر وفوسفات . والمركب الأخير يتحول إلى كحول ايثايل + حمض فورميك كما يلى :



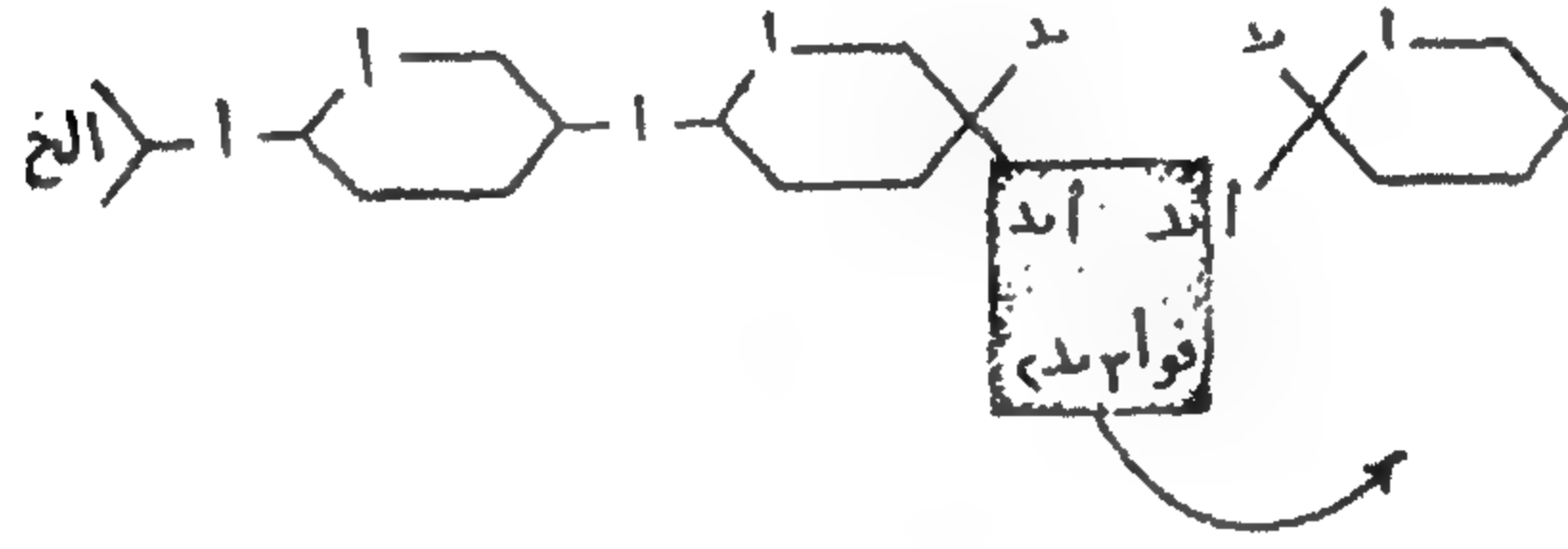
وتخمر الجلوكوز بالبكتيريا *Cl. acetobutylicum* يستغل فى الصناعة

لانتاج بعض المواد الهامة اقتصاديا مثل الاسيتون و كحول البيوتاييل . فاذا تتبعنا تكون المواد المختلفة أثناء نمو هذه البكتيريا في بيئة تحتوى على جلوكوز فاننا نجد أن تكوينها يختلف باختلاف pH البيئة . ففي الأطوار الأولى من النمو عندما تنخفض درجة الـ pH بسرعة ملحوظة ، فانه يتكون كل من حمض البيوتيريك وحمض الخليك وغازى يدم ، كإ ٢ . وعندما تصل قيمة pH البيئة إلى مايقرب من ٥ ، ٤ فان كل من المركبين اسيتون و كحول البيوتاييل تبدأ في التكون . بمعنى أن ظهور المادتين الأخيرتين بالمرعة يكون مصحوبا باختفاء كل من حمض البيوتيريك وخليك منها أو بمعنى آخر أن تكونهما يعمل على رفع قيمة pH المرعة . ويبدو أن تكون الاسيتون أو كحول البيوتاييل بالمرعة يمثل عملية تعادلة حيث أنهما مادتين متعادلتان يتكونان فقط عندما تنخفض قيمة pH البيئة بدرجة قد تمنع نمو الخلايا . وتكون هاتين المادتين يشبه كثيرا طريقة تكون المركب استيل مثيل كاريبول بواسطة البكتيريا *Aerobacter aerogenes* وكذا تكون بعض الامينات أو الأحماض الأمينية بواسطة سلالات من البكتيريا *E.coli* حيث أن هذه المواد لا تتكون بالمرعة الا عند انخفاض درجة الـ pH وأن تكوينها يكون بمثابة عملية تعادلة .

#### تكوين عديدات السكر Formation of polysoccharides

ان مركب جلوكوز - ٦ - فوسفات الذى يدخل في مجموعة من التحويلات والتي سبق أن اشرنا إليها في (شكل ١٠٦) ، يمكنه أيضا أن يتحول إلى جلوكوز - ١ - فوسفات بمساعدة انزيم الفوسفوجلوكوميوناز phosphoglucose ucomutase الذى يستعمل المركب ١ ، ٦ داي فوسفو جلوكوز كمرافق انزيمى . وهذا المرافق الانزيمى يعمل بنفس الطريقة التى يعمل بها المركب ٢ ، ٣ داي فوسفو جليسيريك كمرافق انزيمى للانزيم فوسفوجلوسريك وميوناز phosphoglyceromutase . وجزئيات الجلوكوز - ١ - فوسفات الناتجة تضاف إلى سلاسل الجليكوجين أو النشا المتكونة من وحدات الجلوكوز لتضيف

وحدة أخرى منه إليها . ويتم ذلك في وجود انزيم من انزيمات الفسفرة phosphorase . وينتج عن هذه العملية انطلاق مجموعة فسفور غير عضوية ( نشأ أو جليكوجين + يدم فوايد ← جلو كوز - ١ - فوسفات ) . والنشأ يتكون من وحدات الجلو كوز في سلاسل مستقيمة في حالة الاميلوز amylose أو بشكل سلاسل مستقيمة كالسابقة مرتبطة عن طريق روابط ١-٦- الفاجلو كو سيدي في حالة الاميلوبكتين amylopectin



شكل ١١٢ : رسم تخطيطي يبين ترتيب وحدات الجلو كوز في سلاسل النشأ أو الجليكوجين تتحد ببعضها عن طريق روابط ١ - ٦ : الفاجلو كسيدي .

وترتب وحدات الجلو كوز في حالة الجليكوجين في سلاسل متفرعة متصلة بنفس النوع من الروابط . وفي حالة الاميلوبكتين والجليكوجين فإن فعل انزيم الفوسفوريلاز phosphorylase يعمل على السلسلة الاصلية حتى أمكنة التفرع فقط .

ومن المعروف أن فعل هذه الانزيمات يكون عكسيا فانه عن طريق فعلها يمكن للجليكوجين أو النشأ أن تتكون أو تتحلل . ويبدو أن النشأ أو الجليكوجين المخزن بالخلايا يكون محميا من النشاط الهدمي لهذه الانزيمات . فقد وجد أن خلايا الخميرة الغنية بالجليكوجين المخزن لا تخمره حتى في غياب الجلو كوز عن البيئة ، إلا في حالة حدوث أضرار للخلايا بطريقة معينة . كما أن البكتيريا قد تحتوي على انزيم يمكنه تحويل السكرور إلى جلو كوز - ١ - فوسفات . وفر كتوز (بطريقة عكسية) ويبدو أن مثل هذه التفاعلات تتم هكذا : جلو كوز

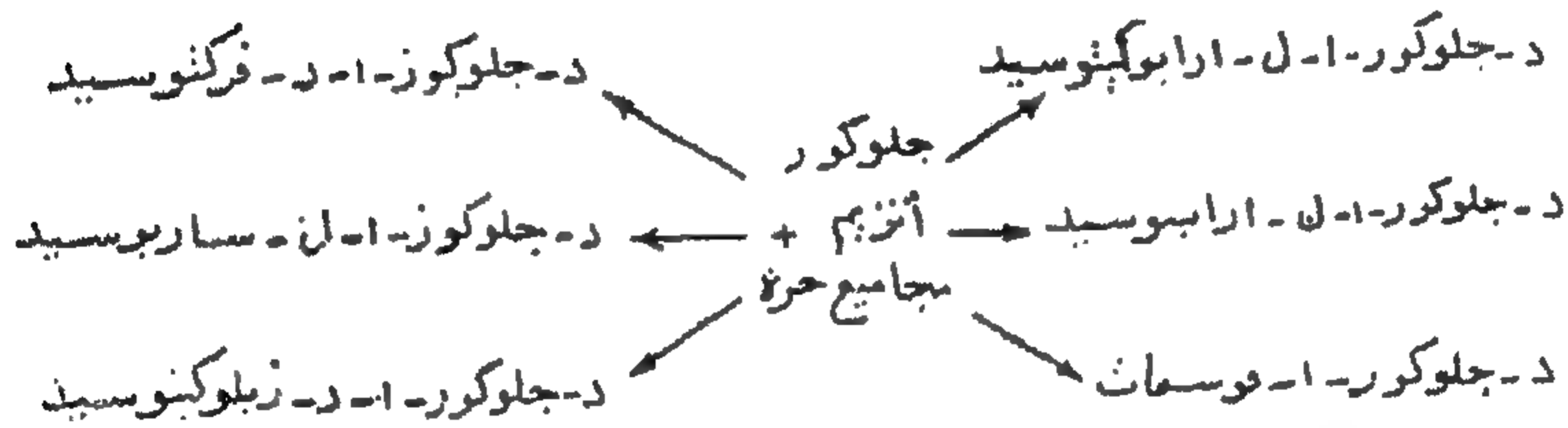
١ - فوسفات + انزيم ← فوسفات غير عضوى - جلو كوز انزيم .  
جلو كوز - انزيم + فركتوز ← سكروز + انزيم .

والانزيم المسئول وهو sucrosephosphorylase يبدو أنه عامل وسيط بين جلو كوز - ١ - فوسفات والمركبات الأخرى ، فمثلا :  
جلو كوز - ١ - فوسفات + انزيم ← جلو كوز - انزيم + فوسفات سكروز  
(د - جلو كوز - ١ - د - فركتوز) + انزيم ← جلو كوز - انزيم + د - فركتوز .

وهذا الانزيم يمكنه إذن أن يحدث تغيير أو تبادل حيث يمكن عن طريقه تحويل أى سكر ثنائى إلى آخر فعند تحضير مخلوط من الانزيم والجلو كوز -

١ - فوسفات أو السكروز مع سكر الارابينوز فإنه يمكن الحصول على مركب جديد هو

د - جلو كوز - ١ - ل - ارابينوسيد + فوسفات أو فركتوز .

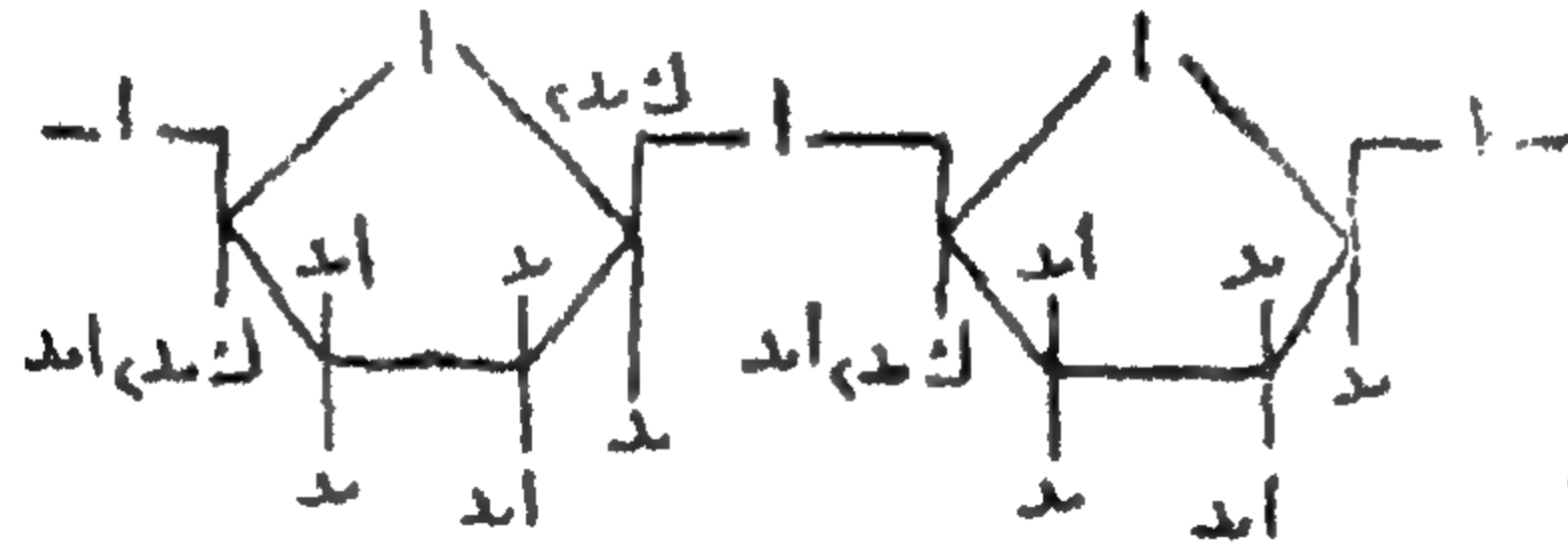


وهناك مجموعة أخرى من الانزيمات يمكنها أن تبدأ فعلها على السكريات الثنائية لتكوين عديدات السكر من أحد السكريات الأحادية في حين أن السكر الأحادى الآخر ينطلق في حالة حرة ويلاحظ أن السكريات الفوسفاتية sugar-phosphate ليس لها دور ملحوظ في هذه الطريقة . وعديدات السكر المتكونة عن هذا الطريق تستخدم في تكوين الأغلفة البكتيرية capules وقد سبق أن ناقشنا ذلك أو أنها تفرز خارجيا إلى البيئة على صورة صمغ gums أو مواد هلامية لزجة slimes .

## تكوين الصمغ أو المواد اللزجة :

يعتبر باستير أول من لاحظ عمليات التخمر اللزجة *Viscus fermentations* والتي تحدث من بعض المحاليل السكرية ( سكروز ) وقد بين أن تكوين المواد اللزجة بهذه المحاليل يرجع إلى تلوثها ببعض الكائنات الدقيقة . وتعرف الآن عدة أنواع بكتيرية لها القدرة على تخليق مواد صمغية لزجة محبة للماء *hydrophilic* ، ومكونة كلية إما من الجلوكوز ان « ديسكتران » أو من الفركتوز « ليفان » .

فعند تنمية البكتيريا *Bac. mesentericus* و *Bac. subtilis* في بيئة تحتوى على سكروز فإنه يتكون بالمرزعة المركب فركتوزان اللزج والذي يتركب من وحدات فركتوفورانوز *fructofuranose* مرتبطة ببعضها كمايلي :



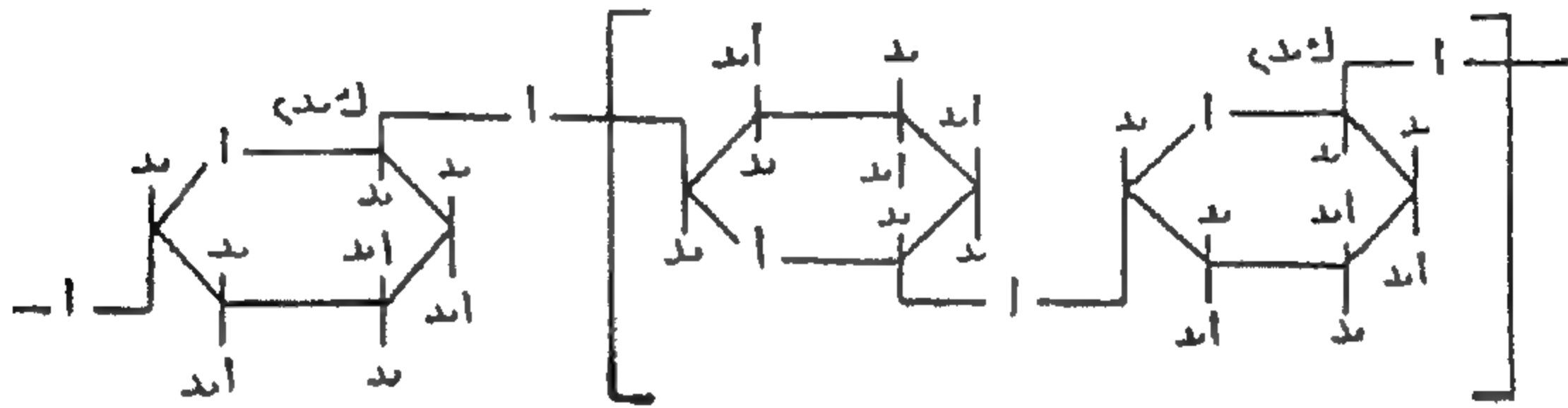
فالبكتيريا تهاجم السكروز لتكون فركتوزان ولكن لا يمكنها أن تكون مواد صمغية أو لزجة من الجلوكوز أو من الفركتوز كل بمفرده ، ولكن يمكن لها إحداث الصمغ إذا توفر لها مخلوط منها أو عقب تحول السكر السكروز . وهذا يوضح أن الطاقة الناتجة عن تحليل السكروز ماثيا قد تستعمل في وحدات الفركتوفورانوز معا .

وقد أمكن الحصول على مستخلصات انزيمية من خلايا البكتيريا *Bac. subtilis* يمكنها أن تساعد في تكوين فركتوزان من سكر السكروز .  
سكروز ← فركتوزان + جلوكوز .

وفي حالات أخرى تتكون الصمغ والمواد اللزجة الخارجية هذه من

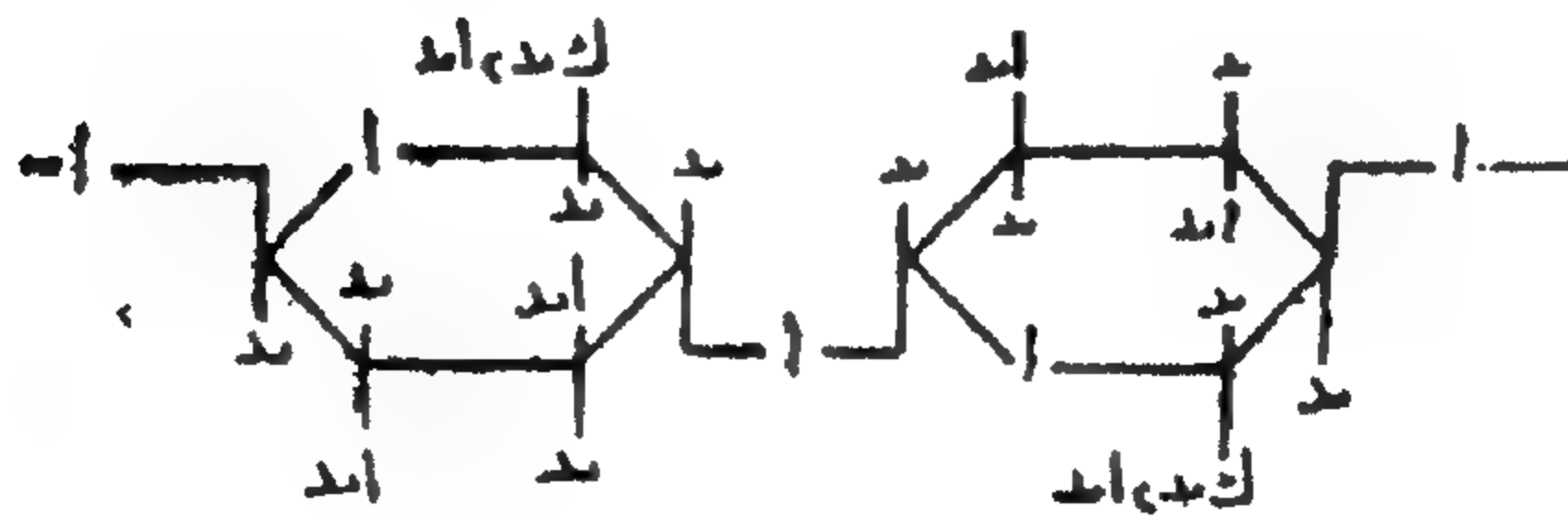


جلو كوزان فالبكتيريا *Leuconostoc dextranicus* ، و *Leucoccus mesenteroides* و *Betacoccus arabionus* ، يمكنها أن تكون الجلو كوزان عندما تنمو في وجود السكر . والجلو كوزان ، يتركب من وحدات متعددة من سكر الجلو كوز كما يلي :



### السليولوز البكتيري

سبق أن ذكرنا أن البكتيريا التابعة للجنس *Acetobacter* وبخاصة *A. xylinum* يمكنها أن تكون غشاء سطحيا لزجا على سطح البيئات التي تحتوي على سكروز أو جليسرول . وأن هذا الغشاء يتكون من عديدات تسكر لها نفس التركيب الكيماوي الخاص بالسليولوز النباتي بمعنى أن سلاسلها تتكون من وحدات متعددة من الجلو كوز glucose كما يلي :



### تخزين الكربوهيدرات بالخلايا البكتيرية

من المعروف أن الطاقة تخزن بالأنسجة الحيوانية على صورة جليكوجين وفي الأنسجة النباتية على صورة نشا . ومن المعروف أيضا أن خلايا البكتيريا

يمكنها أن تخزن احتياطيا من المواد الكربوهيدراتية (عديدات السكر) إلا أن الدراسات التي تمت فيما يختص بطبيعة الكربوهيدرات المخزنة لازالت قليلة نسبيا . فمثلا عندما يسمح لخلايا البكتيريا *E.coli* أن تستهلك كمية زائدة من سكر الجلوكوز ، فإن عديدات سكر يمكنها أن تتكون بداخل الخلايا ولكن هذه المواد تستهلك مباشرة بمجرد نفاد الجلوكوز من البيئة .

## المراجع

- Ajl, S. J. 1951. Terminal respiratory Patterns in micro-organisms. Bact. Rev. 12 : 211.
- Barker, H.A. and M. Dourboff. 1946. «Bacterial metabolism » Ann. Rev. Biochem. 15 : 4745 .
- Elsden, S. R. 1952. «Bacterial fermentations » in J. B. Sumner and K. Myrback (eds) The enzyme. vol. II. Academic Press N. Y.
- Hassid, W. Z. and M. Doudoroff. 1950. Synthesis of disaccharides with bacterial enzymes Advances in Enzymol. 10 : 123.
- Hehre, E. J. 1951. «Enzyme synthesis of polysaccharides : a biological type of polymereization» Advances in Enzymol. 11 : 297
- Lipmann, F. 1941. Metabolic generation and utilization of phosphate bond energy. Advances in Enzymol. 1 : 99.
- Werkman, C. H. 1939. Bacterial dissimilation of carbohydrates. Bact. Rev. 3 : 187.
- Werkman, C. H. and F. Schlenk. 1951. «Anearobic dissimilation of carbohydrates» in C. H. Werkman and P. W. Wilson (eds) «Bacterial physiology» Academic Press, N. Y.

## الفصل الرابع

### التحولات الأيضية للنمواد النيتروجينية

#### Metabolism of Nitrogenous compounds

أن المحتويات البروتينية للخلايا الحية عموماً تمثل المصدر الرئيسى لمادة الحياة بهذه الخلايا . فالانزيمات عبارة عن بروتينات يتم على سطوحها عديد من التفاعلات . وكل خلية بكتيرية تحتوى على عديد من هذه الانزيمات وتختلف الأنواع البكتيرية وكذلك السلالات التابعة للنوع البكتيرى الواحد فى نوع البروتينات التى تحتويها .

ويتركب الجزيء البروتينى من وحدات من الأحماض الأمينية مرتبطة ببعضها عن طريق روابط ببتيدية « peptide bonds » بمعنى أن المجموعة الكربوكسيلية من حمض أمينى معين ترتبط بالمجموعة الأمينية للحمض الأمينى المجاور مع انفصال جزيء من الماء . وبالرغم من معرفة أن جزيء البروتين يتكون من سلاسل طويلة عبارة عن أحماض أمينية مرتبطة ببعضها بالطريقة السابق وصفها إلا أن تركيب البروتينات فى حد ذاته لازال غير معروف . فقد تترتب سلاسل الببتيدات بجملة طرق فمنها ما يترتب بشكل طبقات مترابطة laminated layers أو بشكل حلقات من السلاسل كل منها يتكون من خمسة أو ستة أو سبعة أحماض أمينية أو بشكل حلزوني أو دوائر كبيرة تحتوى كل منها على ١٥ - ٢٠ حمض أمينى ، وكل دائرة قد ترتبط مع الأخرى لتكون أشكالاً مختلفة . وهناك ما يبرر الاعتقاد بأن كل هذه الأشكال قد تتواجد معاً فى تركيب بروتين واحد أو آخر .

ومن المعتقد أن عدد الأحماض الأمينية ودرجة ترتيبها فى السلاسل الببتيدية

وكذا الصورة المتواجدة عليها ( configuration forms ) تحدد طبيعة البروتين وطبيعة سطوح جزيئاته (القدرة التخصصية) علاوة على تحديدها ، لصفاته الكيميائية أو الفيزيائية الأخرى (درجة بنائه وسهولة تحليله إنزيميا وكذا قدرته التخصصية .... الخ) .

ويعرف الآن ما يقرب من ثلاثين حمض أميني تتواجد جميعها بالطبيعة ، وقد ساعدت طرق الدراسة الكروماتوجرافية في اكتشاف بعضها وإضافة المزيد حيث أن عدد الأحماض الأمينية الطبيعية آخذا في الازدياد .

ويبدو أن جزيئات البروتينات تحتوي على معظم هذه الأحماض الأمينية فقد تبين أن ٢٥ حمض أميني تتواجد باستمرار في جزيئات معظم البروتينات إلا أن هناك بعض البروتينات قد تفتقر إلى واحد أو أكثر من الخمس وعشرين حمض اميني المشهورة والمعروفة .

#### هدم البروتينات : Proteolysis

حيث أن عملية تخليق البروتينات تعتبر من التفاعلات الأساسية التي يتضمنها نمو الخلايا البكتيرية فإننا يجب أن نهتم بطبيعة الوحدات البنائية التي يمكن للخلايا أن تبني بها بروتيناتها وكذلك بنوع الانزيمات التي تساعد في مثل هذه التفاعلات البنائية . ومن الطبيعي فإن نمو الخلايا الجديدة في بيئة كان يشغلها من قبل نمو خلايا الآباء تقتضي عمليات تحليلية للبروتينات المعقدة المتخلفة عن النمو السابق وذلك لغرض الاستفادة من المواد الناتجة عن التحلل مثل الأحماض الأمينية أو الأمونيا أو حتى النيتروجين لبناء خلايا جديدة .

وتحلل البروتينات عن طريق النظم البيولوجية عبارة عن عملية تحليل مائي ( hydrolysis ) للبروتين إلى مكوناته من الأحماض الأمينية . وقد تم التعرف على المجاميع الانزيمية التي تساعد في هذه التفاعلات في الأنسجة الحيوانية ، وأمكن تقسيم الانزيمات المحللة للبروتينات proteolytic التي تتواجد في القنوات



الهضمية للحيوانات الثديية إلى : ببسين pepsin ، تريپسين trypsin والأخير يعرف أحيانا باسم اريپسين erypsin . وهذه الإنزيمات تعرف بالبولى ببتيداز « polypeptidases » . أو الببتيداز « peptidases » . هذا ولم يتعرف بعد على طبيعة الانزيمات البكتيرية المحللة للبروتينات والمناظرة لتلك الموجودة بالقنوات الهضمية للحيوانات الثديية .

وحيث أن جزيئات البروتين تكون كبيرة بدرجة لا تسمح بمرورها خلال جدر الخلايا البكتيرية فإن الخلايا المحللة للبروتينات يجب أن تفرز انزيماتها المحللة للبروتين خارجيا لتقوم بالتحلل المائى . وقدرة الخلايا البكتيرية على افراز هذه الانزيمات تكون محدودة فى عدد قليل من الأنواع البكتيرية مثل أنواع جنس *Clostridium* والتي منها *Cl. sporogenes* ، *Cl. histolyticum*

والتي لها القدرة على افراز انزيمات محللة للبروتينات على درجة عالية من النشاط فى بيئة النمو . ويمكن الحصول على هذه الانزيمات من راسح مزارع هذه البكتريات وترسيبها باستعمال أحد المرسبات البروتينية .

وهناك بعض أجناس بكتيرية أخرى تتميز أنواعها بافراز الانزيمات الخاصة بتحليل البروتينات ولكن بدرجة أقل نشاطا مثل أنواع جنس *Proteus* و *Pseudomonas* ، و *Streptococcus* والأخير قد يحتوى على أفراد ضعيفة فى قدرتها التحليلية للبروتينات . ويمكن التعرف على كفاءة البكتريات على تحليل البروتينات المعقدة من قدرتها على هضم الجيلاتين أو الكازين .

وبالرغم من أن الكائنات المحللة للبروتينات قد تفشل فى النمو على بيئات تحتوى على بروتين معقد كمصدر وحيد للكربون إلا أن إضافة القليل من مصدر بروتينى سهل التناول يمكن الخلايا من تخليق الانزيمات المحللة للبروتينات واللازمة لمهاجمة البروتين المعقد .

وهناك ظاهرة يختلف العلماء في تفسيرها وهي التي تعرف بفعل الكربوايدرات الموفر للبروتينات. *protelin sparing action of carbohydrates*. وتتلخص هذه الظاهرة في أن إضافة سكر الدكستروز أو سكر آخر سهل التخمر إلى بيئة نمو بكتيريا محللة للبروتينات يقلل كثيرا من نشاطها التحليلي عنه في حالة غياب الدكستروز ، وقد لاحظ Kendall (١٩٢٣) هذه الظاهرة لأول مرة بدراسته للبكتيريا *Proteus vulgaris* النامية في بيئة الجلاتين والبيون .

وتختلف الفطريات عن البكتيريا في هذا الصدد فقد وجد أن إضافة الكربوايدرات إلى البيئة يزيد من قدرة الفطريات على تحليل البروتينات فقد وجد أن الفطر *Gleocladium roseum* ، وهو من الفطريات الناقصة يزداد قدرة على تحليل البروتينات بزيادة تركيز الجلوكوز بالبيئة إلى حد أقصى ٨٪ ، ويعمل ذلك بأن وجود الجلوكوز تزيد من درجة النمو وبالتالي تزيد كمية الانزيمات المفرزة .

والانزيمات البكتيرية المحللة للبروتينات تهاجم البروتين عن طريق هدم الروابط الببتيدية محولة إياه إلى *polypeptides* ثم تعود مرة أخرى لتهاجم هذه المركبات المعقدة لتكون مركبات أقل تعقيدا وهي *dipeptides* وهذه المركبات تعرف في مجموعها باسم الببتون ، وغالبية البكتيريا غير ذاتية التغذية لها القدرة على استعمال الببتون كمصدر للنيتروجين وأحيانا كمصدر للطاقة . من هنا يمكننا أن نتفهم لماذا تحتوى البيئات الروتينية والخاصة بزرع هذه المجموعة من البكتيريا على مركب الببتون .

ومن المحتمل جدا أن تختلف الأجناس والأنواع البكتيرية في نوع الأنزيمات

المحللة للبروتينات التي تفرزها ولكن لازالت الدراسات الخاصة بهذا الموضوع قليلة وبدرجة لا تسمح باحتمال أى تعميم .

والناتج النهائى من هضم البروتينات عن طريق الانزيمات البكتيرية ( proteases ) هو الأحماض الأمينية .

وحيث أن البكتيريا ذات القدرة على افراز انزيمات محللة للبروتينات خارجيا فهي قد تحتوى على انزيمات شبيهة داخل الخلايا وهذه الانزيمات تكون مشغولة عن عمليات التحلل الذاتى autolysis للخلايا بعد موتها ويمكننا أيضا أن نقرر أن وجود مثل هذه الانزيمات داخلها أثناء نمو الخلية تساعد على تحلل البروتينات الخلوية المستغنى عنها والتي لم تعد صالحة في حين أنها لا تهاجم اطلاقا البروتينات الخلوية وهي في صورتها الفعالة أو الحية .

وحيث أن تحلل البروتينات يتم عن طريق تحللها مائيا إلى بولى ببتيدات ثم داي ببتيدات ثم إلى أحماض أمينية وأن الخلايا تحتوى داخلها على انزيمات ذات القدرة على احداث هذا التحلل فإنه من الممكن عندما تعمل هذه الانزيمات فى الاتجاه المضاد أن تساعد فى عمليات تخليق البروتينات الخلوية .

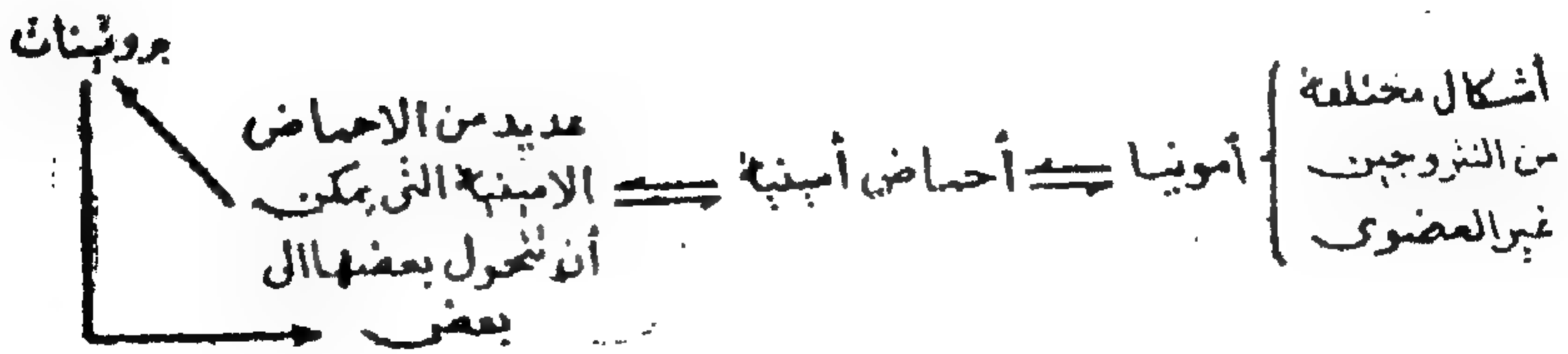
وهناك من البراهين ما يؤيد هذا الاعتقاد : (١) أن سلسلة البولى ببتيد التي تتواجد فى جزىء البروتين لا تتكون عن طريق تكديس مجموعة من الأحماض الأمينية فى وقت واحد بل عن طريق إضافة الأحماض الأمينية إلى السلسلة الببتيدية واحدا عقب الآخر حتى يتم تكوين جزىء البروتين . (٢) أن معظم ، أن لم يكن كل ، الأحماض الأمينية اللازمة لتكوين جزىء بروتينى تتجمع أولا بداخل الخلية .

وقد ثبت أن كمية البروتين التى تحتويها خلية بكتيرية تعتمد إلى حد ما على الظروف المزروعية بمعنى أن الخلايا النامية فى بيئة تحتوى على مصدر فقير

في النيتروجين تحتوي على نسبة قليلة من البروتين وبالتالي يقل نشاطها الانزيمي إلى أن كمية البروتين بالخلية لا تختلف كثيرا وبدرجة كبيرة إذ أن الخلية لا يمكنها الانقسام إلا إذا احتوت على كمية من البروتين تكفي خلقتين . وفي ظروف التجويع النيتروجيني للخلايا فإنه يبدو أن نوع معين من البروتين قد يتحول إلى نوع آخر لكي يستمر النمو .

ومن أسهل الطرق الخاصة لتقدير بروتين معين بالخلايا البكتيرية هو أن يقاس نشاط انزيم معين بها . فإذا فرضنا أن خلية بكتيرية يمكنها أن تنمو وتكون ذات نشاط انزيمي معين ثم تنقل هذه الخلايا إلى بيئة خالية من مصدر للنيتروجين فإننا نلاحظ تلاشي نشاط هذا الانزيم وفي نفس الوقت يمكن ملاحظة زيادة في نشاط انزيم آخر لم يكن موجودا من قبل بهذه الخلايا .

وإذا وفرنا بيئة نمو كائن بكتيري حمضا أمينيا يحتوي على نظائر مشعة ( نيتروجين مشع ) ، فإن هذا الحمض الأميني المعلوم *labeled* يمكن متابعته في البروتينات الخلوية المختلفة . وقد تشاهد النظائر المشعة في بعض الأحماض الأمينية الأخرى وبعض المركبات النيتروجينية الأخرى أيضا ، ولكن غالبية تلاخط في البروتين المحتوي على الحمض الأميني المضاف إلى البيئة . وهذا يوضح أن الأحماض الأمينية الموجودة بالبيئة ، تدخل في تكوين البروتينات الخلوية ، وأنه يمكن تحول الأحماض الأمينية بعضها إلى بعض . ولا يوضح ذلك نسوق البيان التخطيطي التالي (شكل ١١٣) .

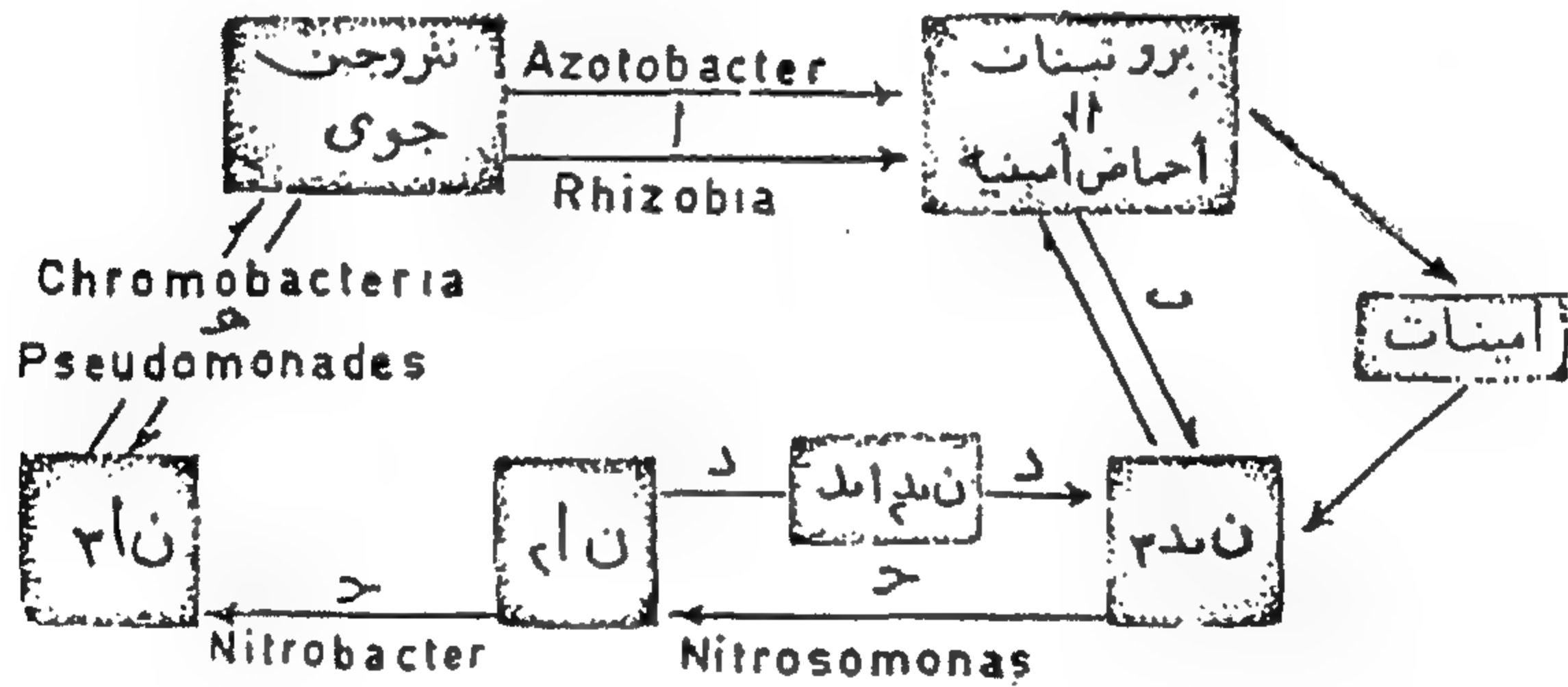


شكل ١١٣ : بيان تخطيطي يمثل الخطوات المختلفة في التحولات الايضية للبروتينات والمواد النيتروجينية .

ويبدو أنه من اللازم تتابع التفاعلات المختلفة حسب ترتيبها الطبيعي والتي تؤدي إلى تحول المركبات النيتروجينية غير العضوية إلى أحماض أمينية ثم إلى بروتينات . ويقودنا هذا إلى مناقشة دورة النيتروجين في الطبيعة لأهميتها في توفير المصادر غير العضوية من النيتروجين .

### دورة النيتروجين :

من المعروف أن بعض البكتيريا يمكنها أن تثبت النيتروجين الجوي (الغازي) لتكون منه مركبات نيتروجينية عضوية ، وهذه المركبات العضوية يمكنها أن تتحلل فيما بعد عن طريق فعل بعض الكائنات الأخرى مع انطلاق الأمونيا والأمونيا بدورها تتأكسد إلى نترات بفعل بكتيريا التآزت ذاتية التغذية كما أن بعض البكتيريا التابعة لجنس *Chromobacterium* يمكنها أن تهاجم النترات مؤدية إلى انطلاق غاز النيتروجين من جديد . من ذلك نجد أن غاز النيتروجين الناتج يمكنه أن يستكمل الدورة . وبين (شكل ١١٤) الخطوات المختلفة في دورة النيتروجين والتي سنتناقشها بشئ من التفصيل .



شكل ١١٤ : دورة الآزوت

وحيث أن الأمونيا هي الصورة النيتروجينية غير العضوية التي يمكن دخولها في تكوين النيتروجين العضوي بالخلايا فهي أيضا تدخل تفاعلات أخرى تتضمن مركبات غير عضوية تكون في حالة توازن مع المركبات العضوية ، يلزم إذن تفصيل هذه التفاعلات لمعرفة دورها في التحولات الغذائية وهي كما يلي :



(١) تثبيت النيتروجين : Nitrogen fixation

هي عملية تحويل للنيتروجين الغازى إلى صور مثبتة fixed forms أو بمعنى آخر إلى صور يسهل على الكائنات الاستفادة منها . ومن المعروف أن هناك كائنات بكتيرية يمكنها استغلال النيتروجين الغازى فى أغراض نموها . وعرفت هذه الحقيقة منذ زمن بعيد كطريقة من طرق زيادة خصوبة التربة الزراعية . إن غالبية النباتات تعتبر ذاتية التغذية حيث تستهلك محتويات التربة من النيتروجين غير العضوى . ونتيجة لذلك فإن زراعة المحاصيل النجيلية مثلا بالأرض الزراعية تستهلك معظم محتوياتها من النيتروجين وتكرار زراعة هذه الأرض سنة تلو الأخرى يسفر عن نقص ملحوظ فى المحصول الناتج حتى تصبح زراعة مثل هذه الأرض بنفس المحصول غير مجدية من الناحية الاقتصادية . ويمكن استرداد خصوبة التربة باتباع أحد طريقتين : ١ - ترك الأرض بور بدون زراعة لمدة عام أو تبادل زراعة القمح مع محصول آخر مثل البرسيم أو غيره من المحاصيل البقولية . فإن كلا من هذه الطرق تعيد مستوى تركيز النيتروجين بالتربة إلى معدله الطبيعى . وكلا الطريقتين يرجع أثرهما إلى فعل البكتيريا فى تثبيت الآزوت الجوى ثم تحويله إلى صورة صالحة لتغذية النبات . فى حالة ترك الأرض بور فإن البكتيريات المسؤولة هى تلك الهوائية اجبارا والتي تعرف باسم *Azotobacter*

وتعتبر البكتيريا *Clostridium pasteurianum* أول البكتيريات التى عزلت من التربة ولها القدرة على تثبيت الآزوت الجوى وهى بكتيريا غير الهوائية اجبارا أقل كفاءة فى تثبيتها للآزوت من البكتيريا *Azotobacter* وهناك بعض الكائنات الدقيقة الأخرى مثل بعض الطحالب الخضراء المزرقية و كل البكتيريات الممثلة للضوء (بيكتيريا الكبريت القرمزية يمكنها أيضا تثبيت الآزوت الجوى .

والبكتيريا *Azotobacter* ذات مقدرة على النمو السريع عند وجود

النيتروجين الغازى كمصدر وحيد للآزوت وكذلك فى وجود الكربوايدرات كمصدر للطاقة . وهناك تلازم طردى بين كمية النيتروجين المثبت وكمية الكربوايدرات المستهلكة . وفى التربة تعتبر كمية الكربوايدرات الممكن استعمالها عاملا محددًا لتثبيت الآزوت ، وهذا يفسر لماذا يهتم المزارعون بإضافة مخلفات المزرعة (الغنية بالمواد الكربوايدراتية) إلى التربة . وبالرغم من الدراسات التى تمت على البكتيريا *Azotobacter* إلا أن كيميائ تثبت الآزوت لازال من الأمور المختلف عليها . وقد اقترح أن النيتروجين الجوى يمتزج أولاً بفعل البكتيريا إلى أمونيا (ن يدم) أو هيدوكسالامين (ن يدم - أيد) إلا أن هذه الاقتراحات كان ينقصها الدليل الكافى . والدراسات الحديثة على البكتيريا *Azotobacter* التى استعمل فيها نيتروجين مشع (  $^{15}\text{N}_2$  - isotopic ) أظهرت أن النيتروجين المشع يمكن متابعته فى الأحماض الأمينية بداخل خلايا البكتيريا بعد دقائق من تعريض الخلايا إليه . وعند عزل الأحماض الأمينية المختلفة من الخلية وتقدير كمية النيتروجين المشع لكل منها فإنه يمكن أن نتوقع أن تلك المحتوية على نسبة أكبر من النيتروجين المشع تكون هى التى تكونت أولاً نتيجة لعملية التثبيت . ومثل هذه الدراسات قد أسفرت عن أن حمض الجلوتاميك هو أكثر الأحماض الأمينية احتواءً على النيتروجين المشع بمعنى أنه الحمض الأمينى الذى يتكون أولاً عقب عملية التثبيت حسب الافتراض السابق ، وأن هذا الحمض لا بد وأنه يعمل على تكوين الأحماض الأمينية الأخرى عن طريق عملية Transamination .

وقد ثبت أيضاً أن البكتيريا *Azotobacter* يمكنها أن تنمو فى وجود الأمونيا . ولكن وجود مثل هذا المصدر من الآزوت يمنع الخلايا من القيام بعملية التثبيت . وإذا علمت الأمونيا المضافة بنيتروجين مشع فإنه يمكن متابعة النيتروجين المعلم labeled nitrogen مباشرة فى البروتين الخلوى بعد عدة دقائق من النمو . وقد وجد أن درجة توزيع النيتروجين المشع فى الأحماض الأمينية كان مطابقاً لما وجد عندما ثبتت الخلايا غاز نيتروجين مشع

أيضا . من ذلك أمكن التعرف على أن الأمونيا هي الناتج الأول لعملية التثبيت.

وقد لوحظ أيضا أهمية وجود آثار من الحديد والكالسيوم والموليبدنم نمو البكتيريا *Azotobacter* عندما يكون الآزوت الجوى هو المصدر الوحيد للنيتروجين وأن ليس لها أهمية إذا ما نمت في وجود الأمونيا أو بمعنى آخر أن وجود آثار من هذه المعادن يعتبر هاما فقط لعملية تثبيت الآزوت الجوى .

ومنذ زمن طويل استطاع المزارعون أن يستغنوا عن عملية ترك الأرض بدون زراعة لاسترجاع خصوبتها بزراعة أحد المحاصيل البقولية بها ، وقد لوحظ أيضا أن جذور هذه النباتات تحتوى على انتفاخات أو عقد عديدة nodules وقد تمكن كل من Hellriegel & Wilfarth ( ١٨٨٨ ) من التعرف على وظيفة هذه العقد الجذرية عندما قاما بدراسة طريقة تكوينها على جذور البسلة حيث وجد أن هناك علاقة بين كمية النيتروجين المثبتة وتكون هذه العقد على الجذور ، كما بينا أيضا أن هذه العقد لا تتكون إطلاقا في التربة المعقمة. وقد أدى ذلك إلى التعرف على أن تكوين العقد على جذور البقوليات يرجع إلى فعل بعض البكتيريا التي تعرف باسم *Rhizobia* وأن هذه البكتيريا تتواجد بالتربة وذات قدرة على اختراق جذور البقوليات وتدخل البكتيريا الجذر عن طريق الشعيرات الجذرية ثم تهاجم خلايا الجذر والتي تتنبه لتكوين جدر حول خلايا البكتيريا المهاجمة والتي تتحد ببعضها مكونة لما يعرف بخيط العدوى infection thread ثم تبدأ الخلايا البكتيرية في إفراز مادة معينة لها القدرة على تنشيط بعض خلايا الجذر على الانقسام ونتيجة لزيادة النمو في مناطق الإصابة تتكون العقد الجذرية ، ونمو العقدة فيما بعد يعتمد كثيرا على النبات . ويحدث ذلك في أماكن كثيرة ومتفرقة على جذور النبات البقولى وعندما تنفجر العقدة أو تتحلل فإن محتوياتها من الخلايا البكتيرية تنطلق إلى التربة لتعيد الإصابة. ووجود البكتيريا *Rhizobia* متصلة بالنبات بالطريقة السابقة الذكر ، يمكنها من القيام بتثبيت الآزوت الجوى

ويبدو أن عملية التثبيت هذه عملية تبادل منفعة « symbiosis » حيث أن كلا من النبات أو البكتيريا عندما تنمو منفردة لا يكون لهما القدرة على تثبيت الآزوت الجوى . والنبات لا يمكنه أن ينمو بحالته الطبيعية في تربة معقمة إذا ما وفرنا له مصدرا من الآزوت الجوى . إلا أنه ينمو جيدا في تربة معقمة إذا ما وفرنا له مصدرا من الآزوت الصالح للامتصاص حيث أنه لا يقدر على تثبيت الآزوت الجوى . وكذلك نجد أن البكتيريا *Rhizeobium* يمكنها أن تعيش معيشة حرة (ليست مرتبطة بالنبات) في بيئة تحتوى على آزوت مثبت «أمونيا» ولكنها في هذه الحالة أيضا تكون غير قادرة على تثبيت الآزوت .

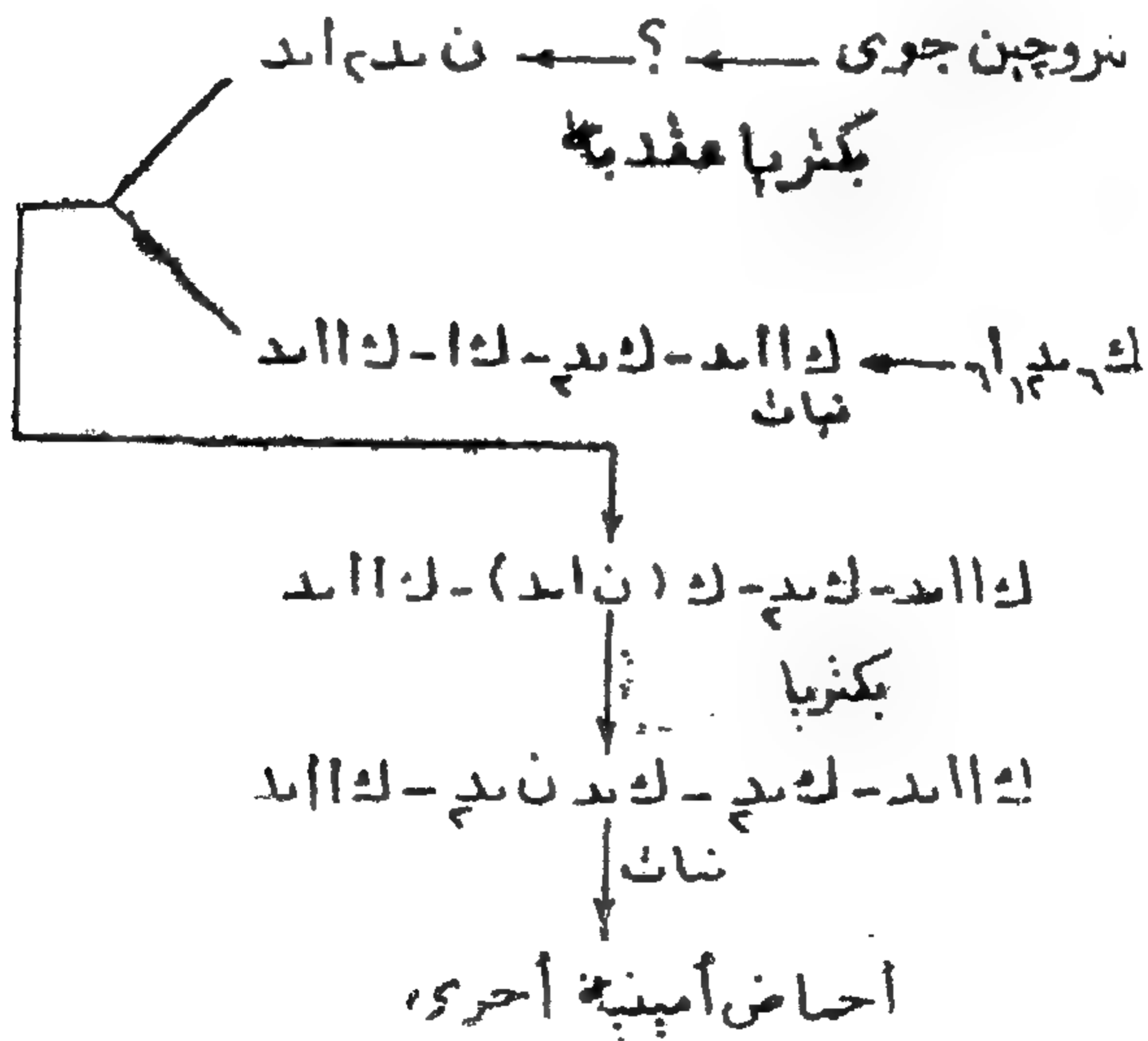
وهناك نوع من التخصص بين البكتيريا العقدية وبين النبات البقولى الذى يمكنها أن تعيش معه معيشة تبادل منفعة. فمثلا نجد البكتيريا *Rhizobium trifolium* يمكنها أن تكون عقدا جذرية فقط على جذور البرسيم الحسولى وتقوم بعملية التثبيت في حين أن البكتيريا *Rh. meliloti* تكون عقدا جذرية على جذور البرسيم الحجازى *Alfalfa* وبعض النباتات البقولية الأخرى . والبكتيريا *Rh. leguminosarum* تكون عقدا جذريا فقط على جذور البسلة وبسلة الزهور والعدس . وعلاوة على ذلك فإن هناك سلالات من النوع الواحد مثل *Rh. trifolium* تختلف في كفاءتها في تثبيت الآزوت بالرغم من تكوينها للعقد الجذرية .

من ذلك نرى أنه من الناحية الاقتصادية يازم استعمال السلالات ذات الكفاءة المرتفعة في عملية التثبيت في تلقيح التربة في تلقيح التربة أو البذور قبل الزراعة للحصول على أكبر ربح . وتعرف مجموعة النباتات التى تصاب بسلالة معينة من هذه البكتيريا باسم (المجموعة المشتركة التلقيح) *cros-inosulation group* وعقب تكون العقد على الجذور فإن البكتيريا قد تثبت أولا تثبت الآزوت حسب طبيعة السلالة المستعملة . وفي الحالة الأخيرة يمكن اعتبار البكتيريا مرضا نباتيا . وقدرة البكتيريا على تثبيت الآزوت

تتوقف على نوع النبات وعلى الظروف البيئية للنمو ، وكذلك على كمية النيتروجين التي يكون النبات قد امتصها . وعندما تتوازن كل هذه الظروف يمكن للعملية أن تستمر بطريقة تبادل المنفعة ، حيث تمد البكتيريا النبات باحتياجاته من النيتروجين ويوفر النبات الغذاء والمكان اللازم للبكتيريا .

وقد تمت دراسة كيمياء تثبيت الآزوت عن طريق تبادل المنفعة بشيء من التفصيل حيث نشرت مجموعة كبيرة من الأبحاث عن هذا الموضوع كان أهمها ما نشره العالم Virtanen (١٩٤٧) والذي اقترح فيها مايلي :

يثبت الآزوت بواسطة البكتيريا العقدية ليكون مادة الهيدروكسال أمين (نيدم ايد) عقب خطوات وسطية غير متعرف عليها . وفي نفس الوقت تتحلل المواد الكربوهيدراتية بداخل خلايا النبات لتكون نتيجة لذلك حمض أوكسالاستيك ( oxalacetic acid ) . يتحد الهيدروكسال أمين مع حمض الأوكسالاستيك مباشرة ليتكون منها مركب معقد هو حمض الاوكزيموسكسينيك ( oximo - succinic acid ) والذي يختزل فيما بعد بفعل



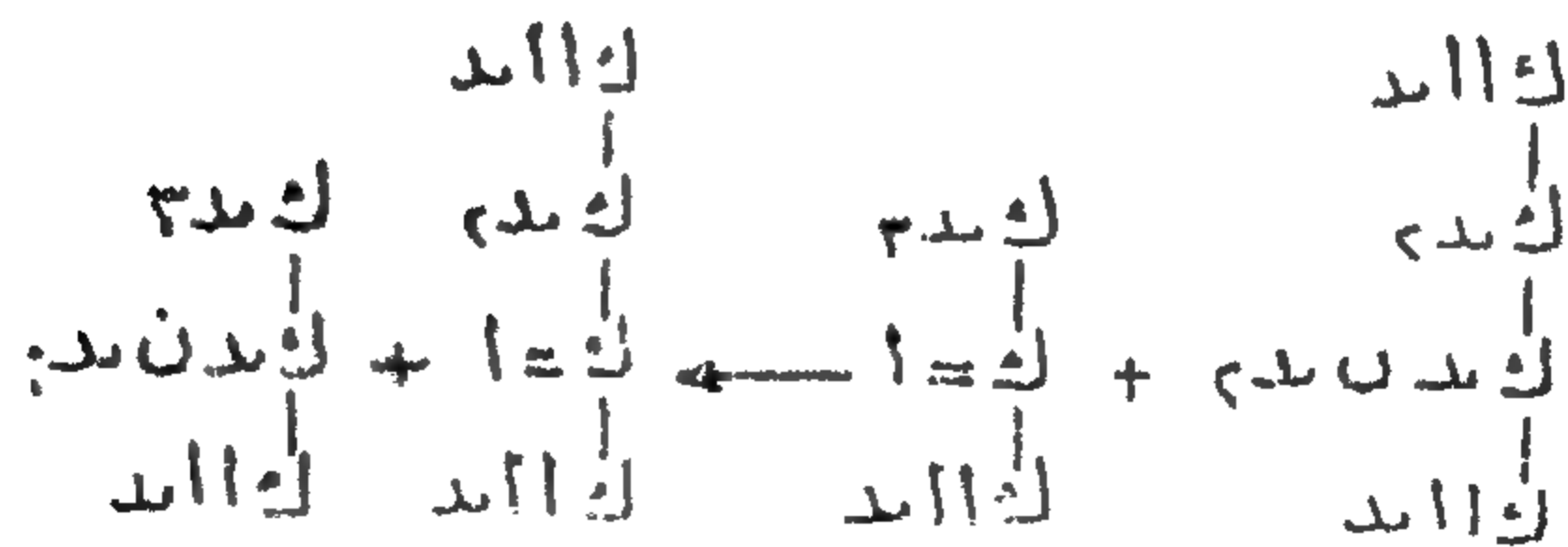
شكل ١١٥ : الخطوات المختلفة في عملية تثبيت الآزوت بواسطة البكتيريا العقدية .



البكتيريا العقدية إلى حمض الاسبارتيك ( aspartic acid ) . وحمض الاسبارتيك الناتج يعمل كمصدر للاحماض الأمينية الأخرى بداخل أنسجة النبات عن طريق عملية تحويلية تعرف باسم transamination . و ( شكل ١١٥ يبين الخطوات المختلفة من هذه التفاعلات .

والبراهين التي تؤيد هذا النظام كما ذكرها Virtanen هي كما يلي :

- ١ — امكان عزل حمض الاسبارتيك وبعض نواتج تحلله مثل مركب البيتا الانين B-alanine من التربة المحيطة بجذور النباتات البقولية ضمن الافرازات الجذرية وأن هذه الافرازات تنتج فقط من العقد الجذرية
- ٢ — امكان عزل المركب أو كزيمو سكسينك من التربة المحيطة بجذور النبات البقولى . ٣ — امكان التعرف على حمض الاكسالاستيك فى عصارات النباتات البقولية ٤ — امكان تنمية البكتيريا العقدية فى البيئات الحالية من مصدر للأزوت بشرط اضافة حمض الاكسالاستيك اليها حيث يمكن للنمو أن يحدث نتيجة لتثبيت الخلايا للنيتروجين الجوى . ٥ — امكان احداث تحول امينى transamination بين كل من حمض الاسبارتيك وحمض البيروفيك فى وجود مستخلصات نباتات البسلة ، والذي ينتج عنه حمض الأكسالاستيك وحمض الانين طبقاً للمعادلة التالية :



وقد قام Wilson وآخرون ( ١٩٥٢ ) بدراسة تثبيت الآزوت بالبكتيريا العقدية ولكنهم لم يستطيعوا الحصول على ناتج مشابه لتلك التي اشار إليها Vertanen الا أنهم وجدوا أن عملية التثبيت يمكنها أن تتوقف فى وجود

الايدروجين . كما وجدوا أن العقد الجذرية تحتوى على صبغة هيماتينية haematin-pigment تشبه كثيرا هيمو جلوبين الدم ، ولا يعرف إلى الآن الدور الذى تقوم به هذه المادة فى عملية تثبيت الآزوت .

### (ب) التحولات التى تتم بين النيتروجين البكتيرى والأمونيا

ان تحول البروتين البكتيرى إلى امونيا أو تحول الامونيا إلى بروتينات بكتيرية سوف يناقش فيما بعد . كما أن تحلل الأحماض الأمينية عن طريق عملية ازالة مجاميع الأمين deamination أو جزيئات كـ  $\text{CO}_2$  decarboxylation يتم تبعا لدرجة الـ pH السائدة فى البيئة ، فاذا حدثت عملية decarboxylation ينتج عن ذلك أمينات تزيد من حموضة البيئة ، وإذا وصلت قيمة pH البيئة إلى درجة التعادل أو القلوية فان الأميدات الناتجة نفسها يمكنها أن تهاجم عن طريق بعض البكتيريات مثل Pseudomonades مع انطلاق غاز الأمونيا .

### (ج) التآزت Nitrification

ان عملية تأكسد الأمونيا إلى نترات بالتربة يعرف باسم التآزت nitification وقد كان Schloesing & Muntz ( ١٨٧٧ ) أول من بينا الأهمية البيولوجية لهذه العملية فقد قاما بتمرير محلول محتوى على امونيا خلال انبوبة طويلة محتوية على مخلوط من الرمل والطباشير ولاحظا اختفاء الأمونيا من المحلول الراشح واحتوائه على النترات وقد أظهر أيضا أن معاملة محتويات الانبوبة بالحرارة أو المواد الكيماوية السامة يوقف هذا التحول بمعنى أن معاملة محتويات الأمونيا تمر خلال الرمل بدون تغير . وبعد مرور مايقرب من أربعة عشر عاما على هذه التجربة تمكن Winogradsky ( ٩٠ - ١٨٩١ ) من عزل نوعين من البكتيريا مسئولة عن التآزت وهما *Nitrosomonas* ، *Nitrobacter* وهما من البكتيريات ذاتية التغذية اجبارا والتي لا تقدر على النمو أو بمعنى آخر يمتنع نموها فى وجود المواد العضوية . وحيث أنه كان من المعتاد حينئذ عزل الكائنات الحية عن طريق تنميتها على سطوح البيئات الصلبة المحتوية على جيلاتين

فيمكننا اذن أن نفهم سبب التخلف في عزل هذه البكتيريات ، إلى أن تمكن Winogradsky من تحضير بيئة صلبة تتكون من أملاح معدنية مضافا إليها مادة السليكا لتصلبها وتعرف هذه البيئة الآن باسم بيئة جيل السليكا Silica gel.

وقد أمكن فيما بعد معرفة دور كل من الجنسين البكتيريين في عملية التآزت فقد عرف أن *Nitrosomonas* تقوم بأكسدة الأمونيا إلى نيترايت *Nitrobacter* وتقوم بأكسدة النيتريت المتكون إلى نترات . بمعنى أن الثانية تكمل أكسدة المواد الناتجة من فعل الأولى .

وقد وجد أن العمليتين ليست متبادلة بل هي متعاقبة . فيمكن تنمية البكتيريا *Nitrosomonas* لفترة من الوقت على بيئة تركيبة محتوية على أمونيا كمصدر للنيتروجين والطاقة .

٢ ن يد + ٣ ا ← ٢ يد ن ١ + ٢ يد ٢ + ١ ٧٩ سعرا  
ولكن لا يمكن لهذه البكتيريا أن تنمو في بيئة محتوية على نيتريت في غياب الامونيا .

وبالمثل لا يمكن للبكتيريا *Nitrosomonas* أن تنمو في بيئة خالية تماما من النيتريت حيث أنها لا بد وأن تحصل على الطاقة اللازمة لنموها من أكسدة النيتريت إلى نترات .

يد ن ١ + ١ ← يد ن ١ + ٦ ٢١ سعرا

وعموما يبدو أن عملية التآزت عملية موقوفة على هاتين البكتيريتين وأنها تتم فقط عندما تكون الظروف موافقة تماما لنمو هذه البكتيريات ذاتية التغذية اجبارا .

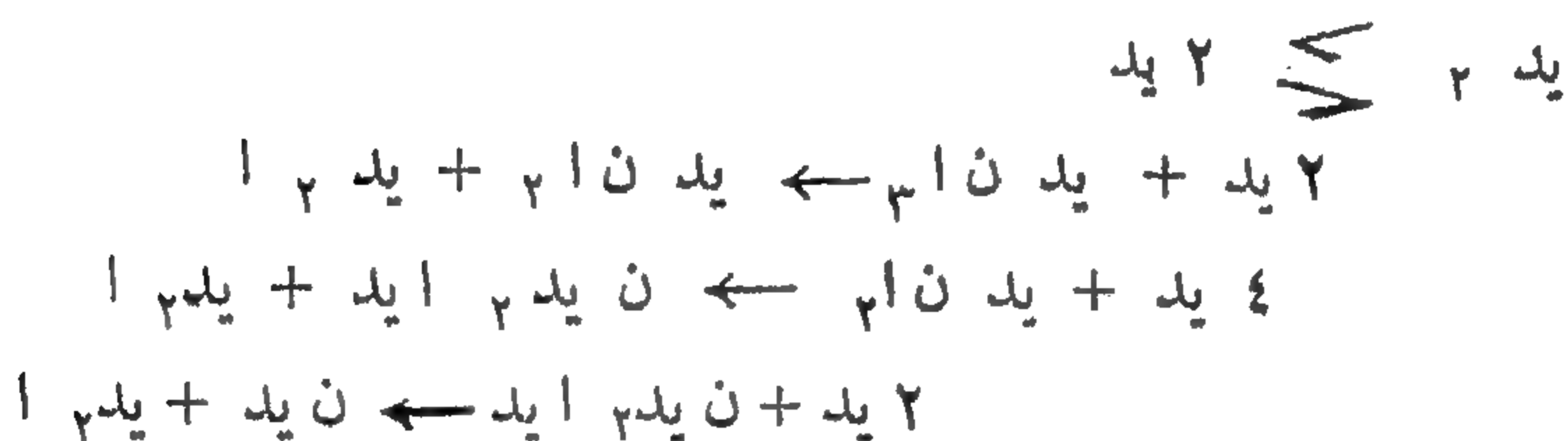
(د) اختزال الآزوتات إلى أمونيا : Nitrate reduction to ammonia

تحدث هذه العملية نتيجة لفعل عدد كبير من البكتيريات منها البكتيريا *E. coli* والبكتيريا *Cl. welchii* . فعند وجود مادة معطية للايدروجين

hydrogen donator فان البكتيريا *E. coli* يمكنها اختزال النترات إلى نيريت نظرا لاحتوائها على انزيم النتراتاز « nitratase ». والهيدروجين اللازم لهذه العملية يمكنه أن يوفر عن طريق أحد الانزيمات المزيلة للايدروجين مثل formic dehydrogenase حيث يمكن لهذه البكتيريا أن تؤكسد في نفس الوقت حمض الفورميك بطريقة غير هوائية في وجود النترات طبقا للمعادلة التالية :



ومن المعروف أن كل من البكتيريا *Cl. welchii* والبكتيريا *E. coli* تمتلك انزيمات مزيلة للايدروجين ، وعند توفر الايدروجين المزال ، نجد أن اختزال النترات يتعدى تكوين النيريت حيث يتكون امونيا نتيجة إلى اختزال النيريت ، مع احتمال تكون مركب الهيدروكسال امين كمادة وسيطة للاختزال طبقا للمعادلات التالية :



ويمكن تلخيص الخطوات السابقة في التفاعل الكلي الآتي :



هذا والتفاعلات التي تتضمن تحول الامونيا إلى نترات يمكن اعتبارها تفاعلات عكسية للخطوات السابقة الاشارة اليها إلا أن التفاعل في اتجاه تكوين النترات ( شكل ١١٤ ح ) يمكن أن يتم فقط عن طريق كائنات ذاتية التغذية اجبارا ، في حين أن التفاعلات في الاتجاه المضاد ( شكل ١١٤ د ) تتم بواسطة عدة كائنات غير ذاتية التغذية قد تكون غير هوائية اجبارا أو اختيارا .

( ٥ ) عملية عكس التآزت : Denitrification

عندما تنمى بعض أنواع من الجنس *Serratia* أو *Chromobacterium* أو تلك التابعة للعائلة *Pseudomonadaceae* على بيئة سائلة تحتوى على النترات أو النيتريت كمصدر للنيتروجين ، يلاحظ اختفاء مثل هذه المصادر النيتروجينية من البيئة مع ظهور بعض الفقاعات الغازية والتي هى عبارة عن فقاعات غاز النيتروجين . وكيمياء هذه العملية التى تعرف باسم عكس التآزت ، لم تدرس بعد بالتفصيل إلا أنه من المعروف أن تفاعلاتها غير عكسية .

من ذلك نرى أن فعل مثل هذه البكتيريات يمثل آخر خطوة فى دورة النيتروجين حيث أنها توفر غاز النيتروجين الذى بدأ به والذى يستعمل كمصدر للنيتروجين للبكتيريا ، *Azotobacter* أو *Rhizobium* وغيرها من الكائنات الدقيقة المثبة للأيدروجين .

تحول الأمونيا إلى مجاميع أمينية

سبق أن أشرنا إلى تحول الأمونيا إلى بروتين بكتيرى عند مناقشة دورة الآزوت ( شكل ١١٤ ب ) وبهنا هنا أن نناقش هذه العملية بشيء من التفصيل .

فمن المعروف أن صورة النيتروجين الممكن للخلايا استغلالها هى الصورة المختزلة من الأمونيا والتي تتحول فيها إلى مجاميع أمينية ( — ن يدم ) أو أميدية ( — ان يدم ) كما هو مبين ( بشكل ١١٦ ) .

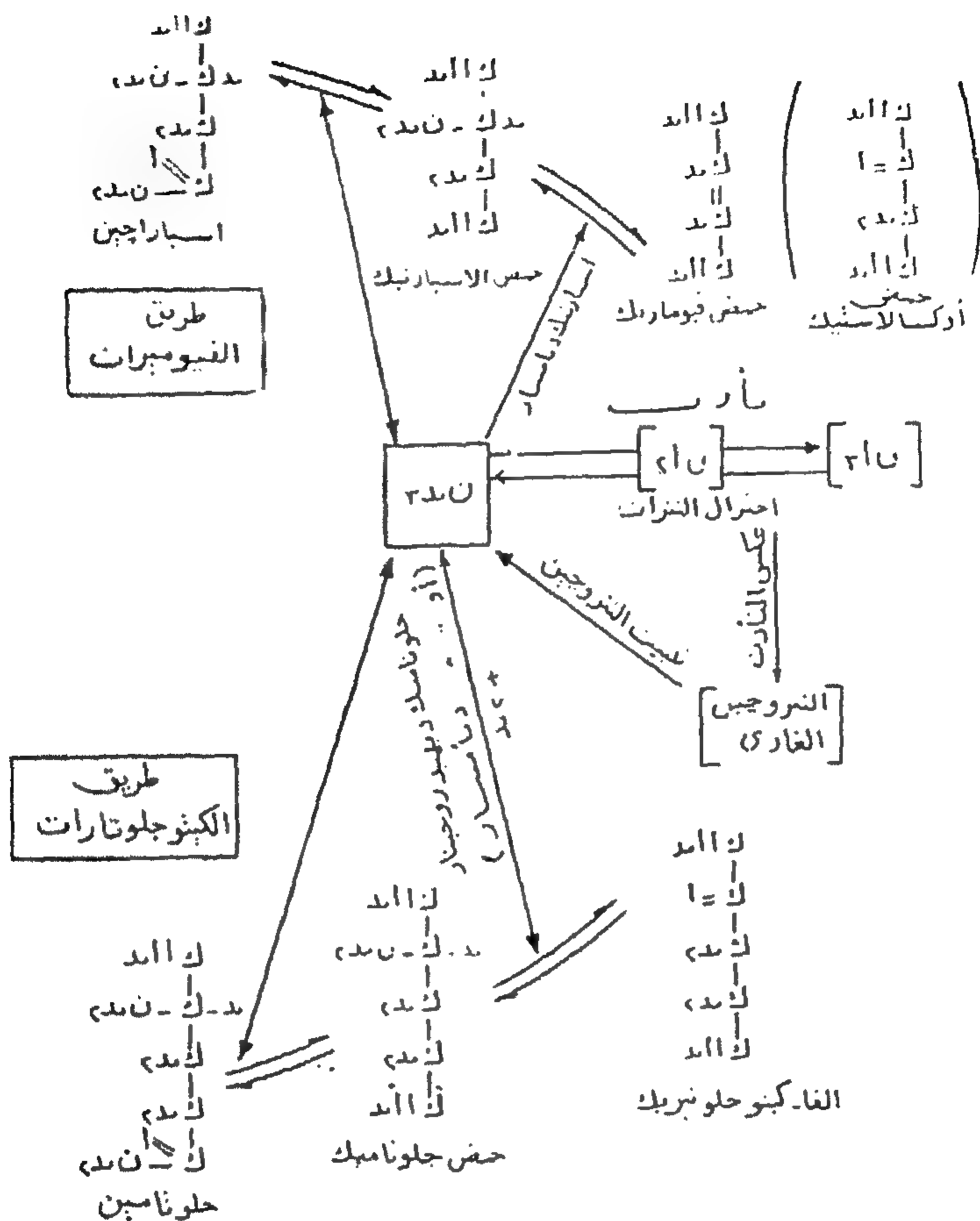
وكما سنبين فيما بعد أن هناك مجموعة من التفاعلات Deamination reactions يمكن للأمونيا أن تنطلق عن طريقها من المجاميع الأمينية ، إلا أن اثنين فقط من هذه التفاعلات تكون عكسية reversible وهذين التفاعلين العكسيين يساعد فيهما كلا من الانزيمين aspartic deaminase و glutamic deaminase والأخير يعرف أحيانا باسم glutamic dehydrogenase وهذين التفاعلين



يمثلان الطريقتين الوحيدتين لتحويل الأمونيا إلى مجاميع أمينية كما هو مبين ( شكل ١١٦ ) . وهناك نوعان آخران من التفاعلات والتي يمكن عن طريقهما إدماج الأمونيا في جزيئات بعض المواد . منها التفاعلات التي تعمل على إدماج الأمونيا في جزيئات الأحماض الأمينية لتتكون أميدات مثل الاسباراجين والجلوتامين ونوعا آخر من هذه التفاعلات تندمج فيها الأمونيا مع غاز ثنائي أكسيد الكربون ليكونا جزيئات اليوريا الا أن هذا التفاعل الأخير لا يتضمن الأمونيا الحرة بل يستعمل حمض الجلوتاميك أو الاسبارتيك كمادة ناقلة للأمونيا . وعلى أى حال فإن هذه التفاعلات بنوعها ، أغنى تلك المسئولة عن تكون الأميدات أو اليوريا لا تؤدي إلى تكوين روابط أمينية . من ذلك نرى أن الطريقتين الوحيدتين المؤديتان إلى ذلك هما طريق الفيومارات والالفا كيتوجلوتارات ( شكل ١١٦ ) .

**طريق الفيومارات Fumarate gateway :** ان طريق الفيومارات ( شكل ١١٦ ) يعتمد كلية على حدوث تفاعل بين حمض الفيوماريك ( وهو حمض غير مشبع ذو مجموعتين كربوكسيليتين ) وغاز الأمونيا ، وأن هذا التفاعل يسفر عن تكوين حمض الاسبارتيك . وهذا التفاعل عكسيا لا يتضمن عمليات تبادل ايديروجين أو عمليات فسفرة . ويمكن تشبيه ذلك التفاعل بذلك الذي يختزل فيه حمض الفيوماريك إلى حمض سكسينيك ولكن يستعمل هنا الأمونيا كعامل اختزال بدلا من الايديروجين . ويجب أن نشير هنا إلى أن حمض الفيوماريك يعتبر من المركبات الهامة المكونة لدورة حمض الستريك ( راجع شكل ١١٠ ) . وهذا قد يبين الارتباط بين التفاعلات الايضية للمواد الكربوايدراتية والبروتينية .

وحمض الاسبارتيك المتكون تستفيد منه الخلايا بواحد أو أكثر من الطرق التالية : (١) يدمج مباشرة في جزيئات البروتين ، (٢) يتحول إلى أميد ( اسبارجن ) ، (٣) يتحول إلى أحماض أخرى بطريق transamination



شكل ١١٦ : الطرق المؤدية إلى تحول الامونيا إلى مجاميع أمينية أو أميدية .

في وجود الأحماض الكيتونية مثل حمض الالفاكيتوجلوتيريك ليكون حمض الجلوتاميك وينفرد حمض الأكسالاستيك والآخر يمكنه أن يتحول إلى حمض المالك والذى بدوره يفقد جزئ من الماء ليتحول إلى حمض فيوماريك (راجع دوره حمض الستريك شكل ١١٠) . وحمض فيوماريك الناتج يتحد مرة ثانية بالأمونيا مكونا حمض اسبارتيك ، (٤) يمكن لحمض الاسبارتيك أن يفقد مجموعته الأمينية حيث ينتج عن ذلك حمض فيوماريك + أمونيا .

$$\begin{array}{c}
 \text{ك ا ا د} \\
 | \\
 \text{ك د د} \\
 | \\
 \text{ك د د} \\
 | \\
 \text{ك = ا} \\
 | \\
 \text{ك ا ا د}
 \end{array}
 \xrightleftharpoons{+ \text{ن د د}}
 \begin{array}{c}
 \text{ك ا ا د} \\
 | \\
 \text{ك د د} \\
 | \\
 \text{ك د د} \\
 | \\
 \text{ك = ن د} \\
 | \\
 \text{ك ا ا د}
 \end{array}
 \xrightarrow{\text{جلونا ميك رهيدرو جينار}}
 \begin{array}{c}
 \text{ك ا ا د} \\
 | \\
 \text{ك د د} \\
 | \\
 \text{ك د د} \\
 | \\
 \text{ك د ن د} \\
 | \\
 \text{ك ا ا د}
 \end{array}$$

حصص اېمېنو جلونا ميك      الفا كيو جلونا ريڪ

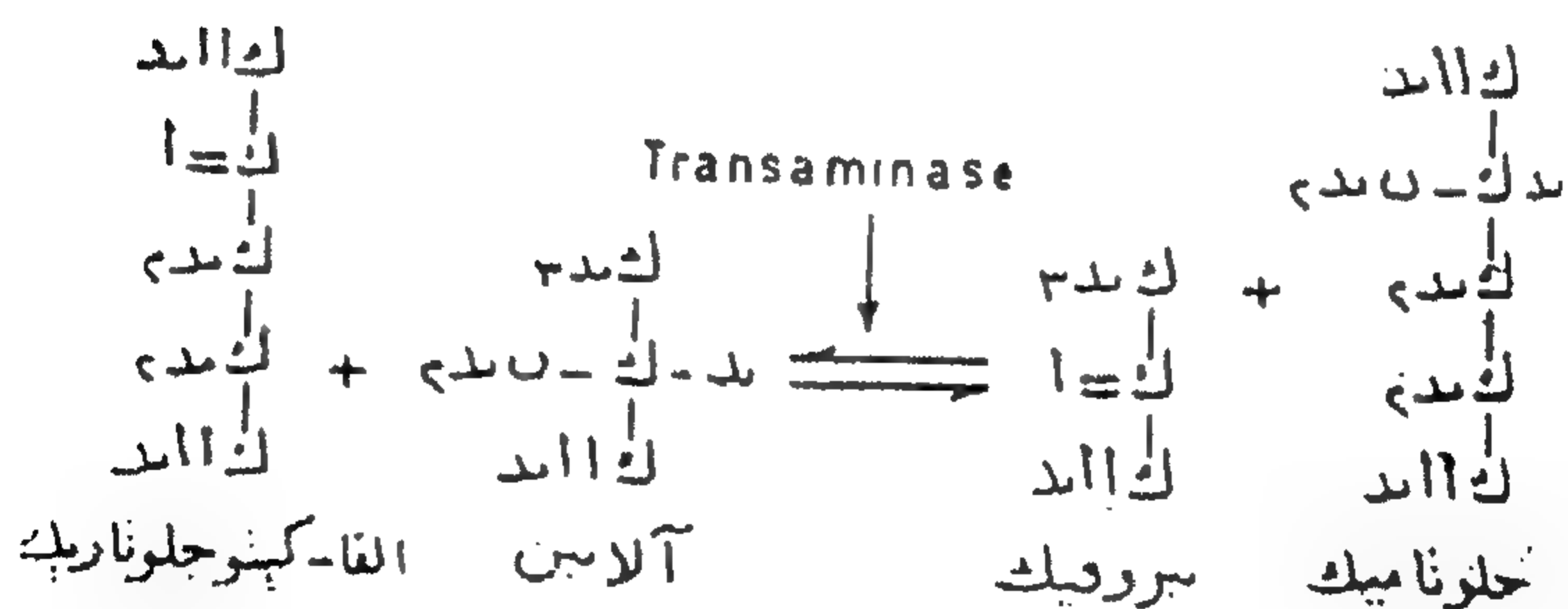
General reactions of amino acids : التفاعلات العامة للأحماض الأمينية:

إن تحول جزىء الأمونيا إلى مجموعة أمينية ، يؤهله إلى الدخول في

عديد من التفاعلات . البعض منها يعتبر تفاعلات عامة لجميع الأحماض الأمينية في حين أن البعض الآخر يكون تخصصيا بمعنى أنها لا تحدث إلا لأحماض امينية معينة . وسوف نناقش هنا التفاعلات العامة للأحماض الأمينية .

## ١ - عمليات التحول الأمينية Transamination

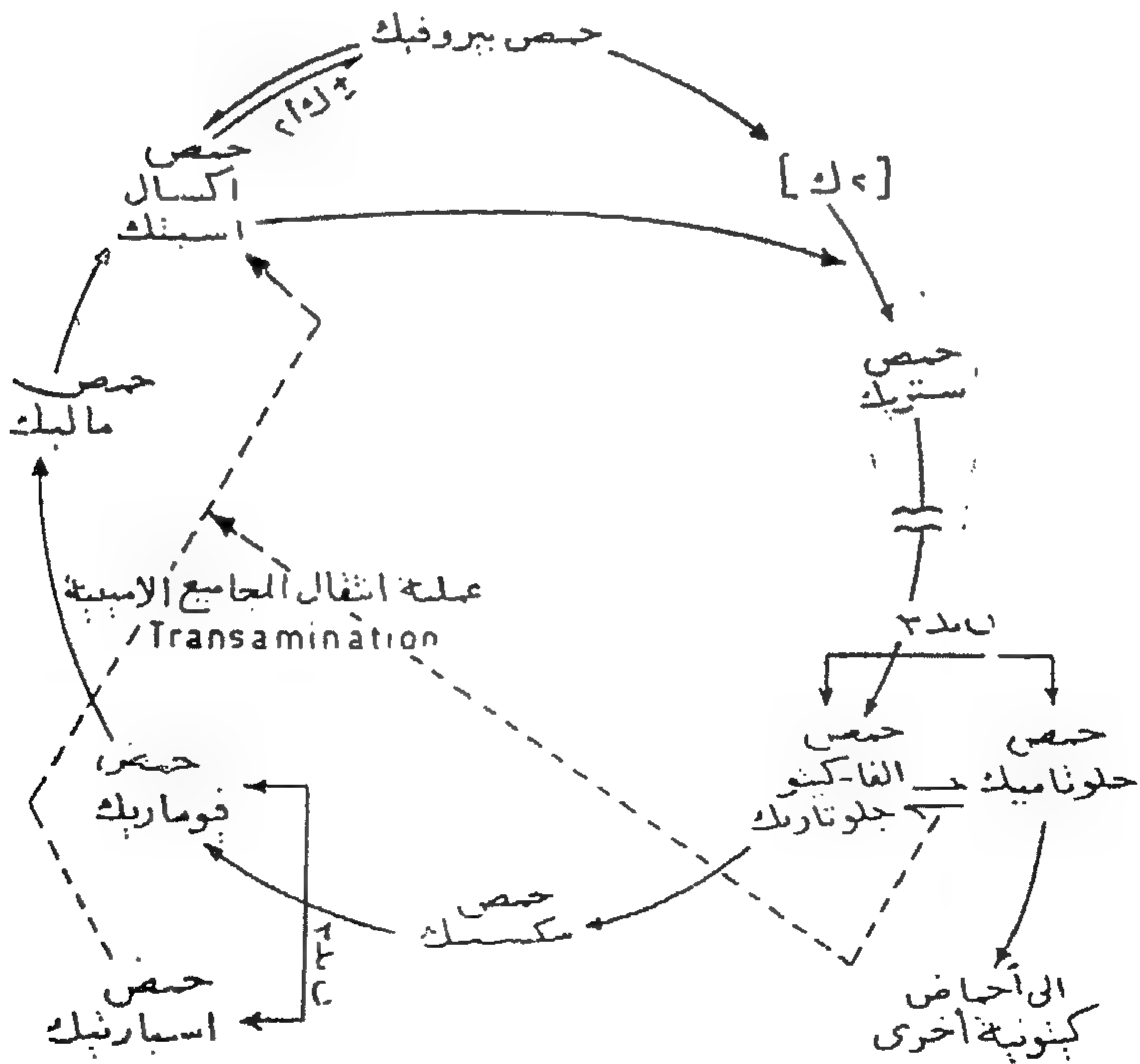
من المعروف أن حمض الجلوتاميك يعتبر حجر الزاوية في تكوين الأحماض الأمينية المختلفة بالخلايا البكتيرية . وتحتوى البكتيريا على مجموعة من الانزيمات تعرف باسم transaminases يمكنها أن تساعد في عملية تبادل المجاميع الأمينية من جزيئات حمض الجلوتاميك إلى جزيئات الأحماض الكيتونية التي تتواجد بالخلية . فمثلا إذا تواجد بالبيئة حمض البيروفيك « وهو حمض كيتوني » يمكن لمجموعة الأمين المتواجدة بـحمض الجلوتاميك أن تنتقل اليه مكونة حمض أميني جديد هو الآنين Alanine ، وفي نفس الوقت يتحول حمض الجلوتاميك الذي نزلت مجموعته الأمينية إلى حمض كيتوني هو حمض الفا كيتوجلوتاريك كما هو مبين بالمعادلة التالية :



وعندما يوجد أى حمض أميني مع المارلوتيريك نجالفا - كب كتيوى  
وجود خلايا بكتيرية معينة أو مستخلصاتها يمكن الحصول على حمض جلاوتاميك  
والصورة الكيتونية من الحمض الأميني المستعمل . وقد يبدو الأمر مقنعا بأن  
هذه الطريقة هي المسئولة عن تخليق الأحماض الأمينية أو على الأقل تكون

ذات أهمية في توفير المجاميع الأمينية ، ولكن لازل الأمر غير واضح بدرجة يمكن معها التقرير بأن هذه العملية مسئولة عن تكوين جميع الأحماض الأمينية فمثلا حمض التربتوفان يتكون بالخلايا نتيجة لتكدس الاندول مع الحمض الأميني سيرين serine ، وأن الحمض الأخير يتكون عن طريق حمض أميني آخر هو الجليسين .

ولعملية الـ transamination أهمية أخرى غير تخليق الأحماض الأمينية فهي توفير الأحماض الكيتونية الجديدة بالخلية والتي يمكن للخلية أن تستفيد منها في أغراض أيضية أخرى و ( شكل ١١٧ ) يبين كيف يمكن تحول الأحماض الأمينية إلى مواد ذات أهمية في التفاعلات الأيضية للكربوايدرات وقد وجد أن فيتامين ب ٦ ( البيردو كسالفوسفات pyridoxal phosphate



شكل ١١٧ : العلاقة بين التحولات الأيضية لكل من الأحماض الأمينية والكربوايدرات .



هو المرافق الانزيمى الخاص بانزيمات نقل الحماض الأمينية transaminases .

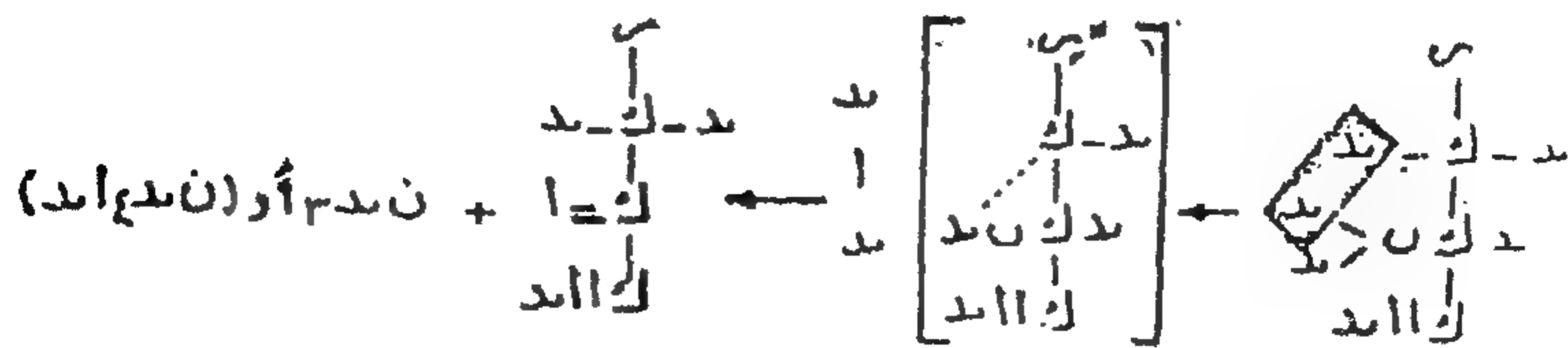
## ٢ — تفاعلات ازالة ثانى أكسيد الكربون Decarboxylation

هى المسئولة عن ازالة جزيئات من ثانى اكسيد الكربون من الحماض الكربوكسيلية للحمض الأمينى الذى يتحول بعد ذلك إلى الأمين المقابل respective amine وتعرف هذه العملية باسم decarboxylation ويساعد فى هذه

التفاعلات الانزيمات المعروفة باسم amino - acid decarboxylases ، وقد ثبت وجود مثل هذه الانزيمات بخلايا البكتيريا كما وجد أن منها ما يختص بازالة ( ك٢ ) ( من حمض الأرجينين محولا إياه إلى اجماتين agmatine وآخر يختص بازالة ( ك١ ) من حمض الهيستدين محولا له إلى هيستامين ، وآخر خاص بالأورنيتين كما أمكن عزل الانزيمات المزيلة ( ك٢ ) والخاصة بالأحماض الأمينية الأخرى مثل التيروسين محولا إياه إلى تيرامين Tyramine ، وحمض الجلوتاميك محولا له إلى أحماض جاما — أمينوبيوتريك ، وحمض الاسبارتيك ووجود مثل هذه الانزيمات بخلايا البكتيريا يؤدي إلى تكوين الامينات المقابلة ، الا أن الأهمية الفسيولوجية لهذه الأمينات لخلايا البكتيريا لا زالت غير معروفة وقد لوحظ أن الأمينات المتكونة قد تتأكسد فيما بعد فى خلايا بعض البكتريات الا أن هذه العملية ليس لها أهمية فسيولوجية تستحق الذكر . وقد وجد أيضا ان فيتامين « ب ٦ » ( pyridoxal phosphate ) يعمل كمرافق انزيمى لهذه المجموعة من الانزيمات .

## ٣ — تفاعلات فصل الحماض الأمينية : Decamination

تعتبر هذه من التفاعلات العامة للأحماض الأمينية التى مازالت أهميتها



شكل ١١٨ : طريقة عمل الانزيمات amino - acid oxidases

الفسيولوجية للخلايا غامضة . وتضمن هذه التفاعلات أكسدة الأحماض  
الأمينية في موضع المجاميع الأمينية كما هو مبين ( بشكل ١١٨ ) .

ويعمل في هذه العملية مجموعتان من الانزيمات تلك التي يتخصص  
فعلها على المشابهات ديكسترو (D) من الأحماض الأمينية والأخرى على  
المشابهات ليفو (L) من هذه الأحماض .

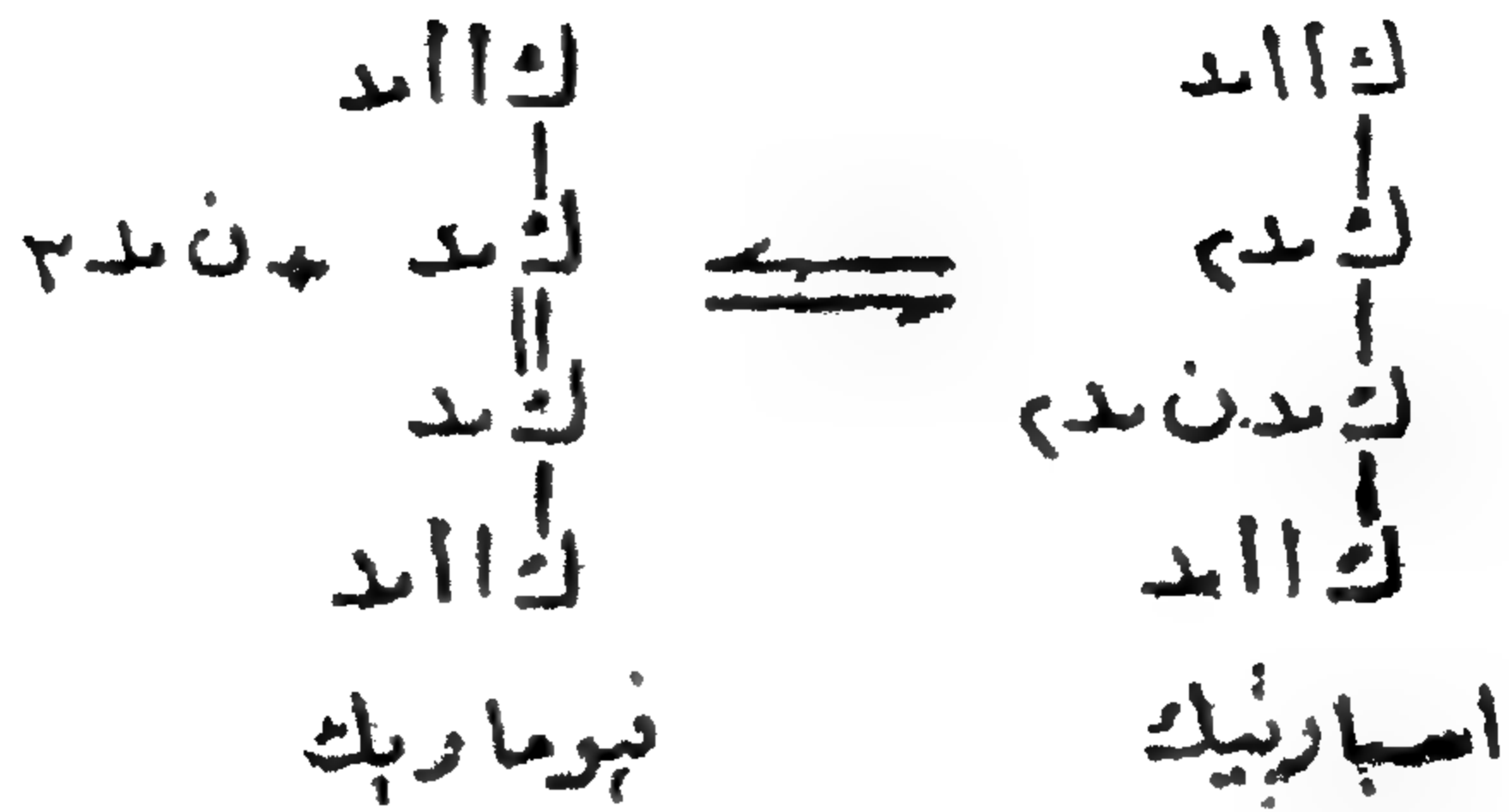
وتختلف الانزيمات التابعة لأفراد أى من المجموعتين تبعا لنوع الكائن  
الحى . وعموما فان هذه الانزيمات قد تهاجم المشابهات (L) أو (D) على  
سرعات مختلفة فيما عدا الحمض الأميني جليسين والذي له انزيمه التأكسدى  
الخاص حيث أن هذا الحمض على أى صورة من (L) أو (D). وكذلك يشذ  
عن ذلك ، حمض الجلوتاميك والسيرين وأحيانا تلك الأحماض الأمينية  
المحتوية على كبريت فيما عدا الثيرينون التي تهاجم بمثل هذا النوع من الانزيمات

من الواضح جدا أن الانزيمات amino acid oxidases ما هى الا  
انزيمات ازالة الايدروجين dehydrogenases حيث تنطلق الأمونيا من المجاميع  
الأمينية نتيجة لفعلها .

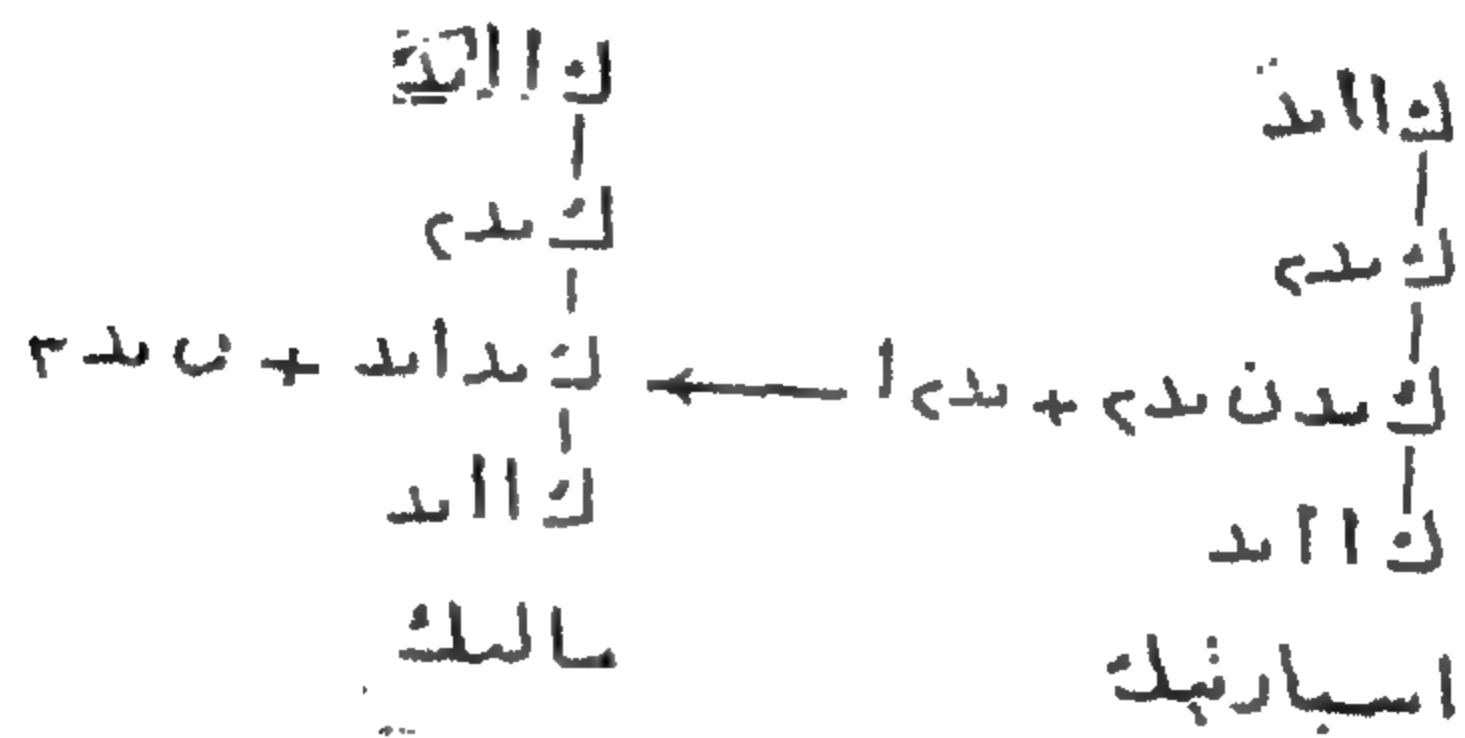
وعملية ازالة المجاميع الأمينية قسمت قديما إلى أربعة أقسام تبعا للطرق  
التي تم بها :

١ — طريقة تأكسدية oxidative وينتج عن ذلك حمض كيتوني + أمونيا  
كما هو مبين ( بشكل ١١٨ ) .

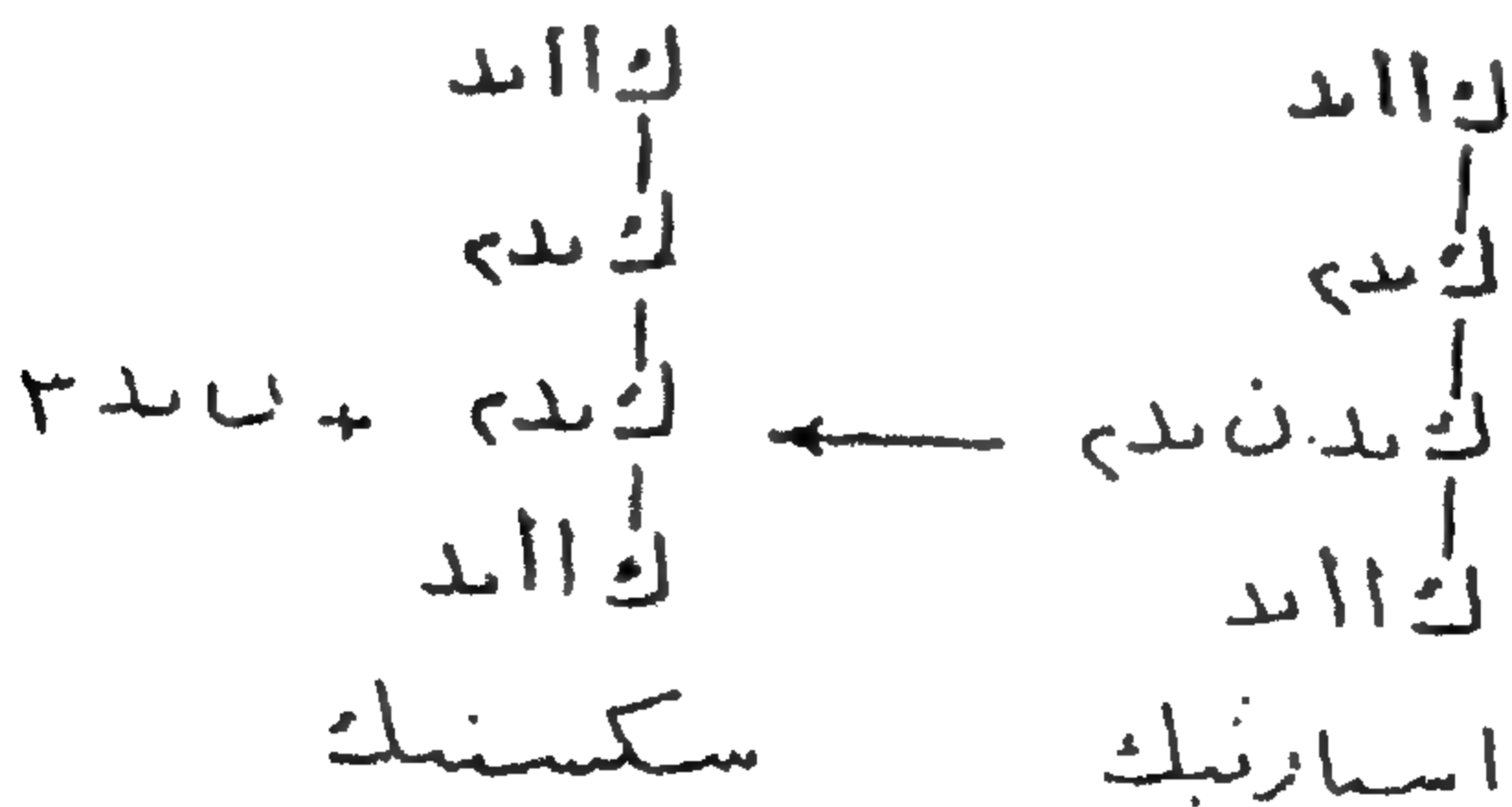
٢ — طريقة غير تشبعية Desaturating وفيها يتكون حمض غير مشبع  
أمونيا كما في المثال التالى



٣ - طريقة يضاف فيها جزيء ماء للحمض الأميني hydrolytic ويؤدي إلى انفصال الأمونيا مع تكوين حمض هيدروكسي .



٤ - طريقة اختزالية reductive وفيها يتكون حمض مختزل + أمونيا . وتم هذه الطريقة عادة بالكائنات الهوائية اجبارا .



ويبدو أن تقسيم العملية بهذه الطريقة قد تم على أساس الجزيء المتبقى من الحمض الأميني بعد إزالة مجموعته الأمينية وليس طبقاً لعملية الإزالة نفسها. إلا أنه قد أمكن حديثاً إيجاد تقسيماً آخر مبني على أساس آخر هو كما يلي:



٤ — إنزيمات تعمل بطريقة تجفيفية dehydrative deaminases ويقتصر فعل هذه الانزيمات على بعض الأحماض الأمينية مثل السيرين والثريونين والستاتين cysteine تفاعلاتها غير هوائية وغير عكسية .

هذا وهناك انزيمان آخران يمكنهما مهاجمة مجاميع الجوانايدين . وليس مجاميع الأمين ، والتي تتواجد بالحمضين الأمينيين ارجنين والستريولين .

تفاعلات خاصة بأحماض أمينية معينة :

ان كل الأحماض الأمينية تكون معرضة لحدوث التفاعلات العامة السابقة الذكر ، إلا أن هناك بعض التفاعلات التي يختص بها حمض امينى معين أو مجموعة صغيرة من الأحماض الأمينية ولاظهار مثل هذه التفاعلات يجب أن نستعرض الأحماض الأمينية المختلفة واحدا تلو الآخر ونبين تفاعلاته الخاصة :

١ — الجليسين Glycine : مازال غير معروف كيفية تخليقه بالخلايا الا أنه يقترح أن هناك طريقتين ، الأولى يفترض أن إضافة مجموعة ميثيل جديدة إلى الجليسين ينتج عنه تكوين حمض السيرين وأن ذلك لوحدث في الاتجاه المضاد يمكن أن يكون جليسين مرة أخرى ، والطريق الثانى بين امكان حدوث عملية transamination كطريقة لإنتاج هذا الحمض . وحمض الجليسين هام جدا لتخليق البيورينات وبعض الصبغات التي تتواجد ببعض البكتيريات التي تعرف porphyrin pigments

٢ — الآنين Alanine : يمكن أن يقوم بكل التفاعلات العامة . الا أن هناك انزيم الراسياز الذى يحول الصورة ( D ) ← ( L ) . وغالبا يتكون هذا الحمض نتيجة لعملية transamination بين ( البيروفيك + الجلوتاميك ) .

٣ — سيرين Serine : يمكن أن تنقل الوحدة الكربونية الحاملة لمجموعة



الهيدروكسيل في جزئ السيرين إلى جزيئات مركبات أخرى تاركة مركب ذو ذرتين من الكربون هو حمض الجليسين . كما أن السيرين يمكنه أن يتكون من الجليسين عن الطريق العكسي بإضافة هذه المجموعة الكربونية إلى الجليسين كما سبق أن بينا . وفي الأنسجة الحيوانية يستعمل السيرين كمركب مبدئي ، لتكوين مركب الايثانول امين Ethanol amine عقب عملية decarboxylation

وإذا اتحد السيرين بمركب الأندول فانه ينشأ عن ذلك حمض التربتوفان الأميني كما سنذكر فيما بعد . وفي الأنسجة الحيوانية يتفاعل السيرين أيضا مع مركب الهوموسيسيتاين homocysteine لتكوين المركب cystathionine وهذا التفاعل الأخير لم يثبت حدوثه بعد في خلايا البكتيريا .

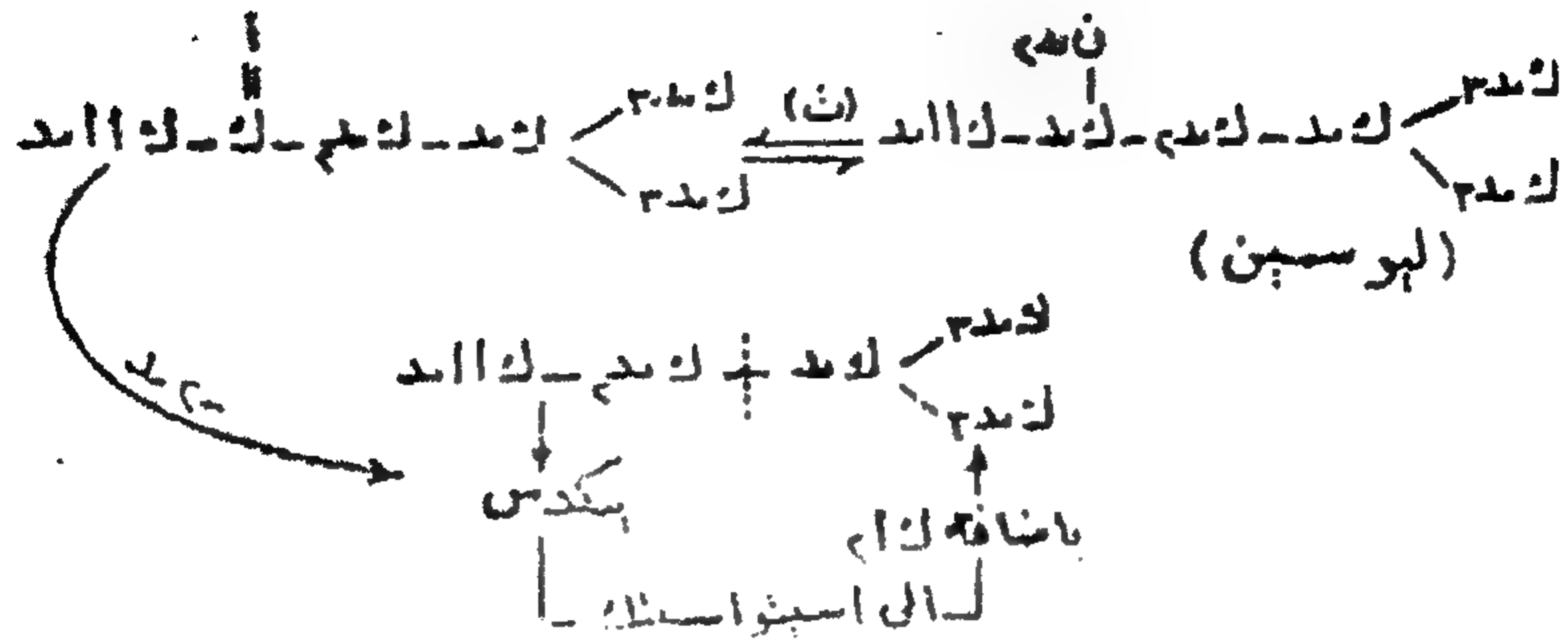
٤ — ثريونين Threonine : يدخل في تركيب البروتينات ويحدث له كل التفاعلات العامة . ليس له تفاعلات خاصة .

٥ — السيسيتين والسيسيتاين Cystine & Cysteine : سبق بيان أهميتها في تكوين cystathionine في الأنسجة الحيوانية ويمكن لها أن تتحول بهذه الطريقة إلى سيرين مرة أخرى . كما يمكنها أيضا أن تكون بعض الببتيدات النشطة مثل الجلوتاثيون glutathione .

٦ — الميثايونين Methionine : علاوة على التفاعلات العامة فان جزيئاته تعمل في الأنسجة الحيوانية كناقلات لمجاميع الميثايل ، إلا أن مثل هذا الدور في خلايا البكتيريا لازال غير معروف . كما أن عمليات تخليقه بخلايا البكتيريا مازالت غامضة أيضا .

٧ — فالين وايزوليوسين Valine & Isoleucine : تفاعلات عامة

ويبدو أن هذه الأحماض الأمينية تتكون من حمض الحليك بطريق عكسي كما يظهر من التفاعلات المبينة (بشكل ١١٩) .



شكل ١١٩ : تفاعل حمض الليوسين الأميني إلى اسيتواسيتيك . (ت) = transamination .

٨ - الليوسين Leucine : يبين (شكل ١١٩) طريقة تحلله إلى اسيتواسيتيك

٩ - الاورنوئين Ornithine : كل التفاعلات العامة .

١٠ - السيترولين Citrulline : نادرا ما يشاهد في جزيئات البروتين .

١١ - الارجينين Arginine : كل التفاعلات العامة .

أن الثلاثة أحماض الأمينية الأخيرة تكون مرتبطة ببعضها تماما كارتباط اللايسين ، والبرولين ، وحمض الجلوتاميك (شكل ١٢٠) . وبالرغم من أن التفاعلات التي تقتضي ارتباطها تفاعلات معقدة إلا أنه يلزم الاهتمام بها لأنها تبين علاقة الأحماض الأمينية ببعضها وكذا العلاقة بين التحولات الأيضية للبروتينات والكربوايدرات ، كما أنها تبين طريقة تنظيم الخلايا لمحتوياتها الأنزيمية . وحمض الاورنوئين يتحول إلى حمض سيترولين عقب إضافة مجموعة أميدية

ن يد ٢

١

(١ = ك -) إلى جزيئاته ، وهذه المجاميع يمكن التحصل عليها من المركب كارباميل جلوتاميك أو مشتقاته (شكل ١٢٠) . والتفاعل العكسي (اعني تحول السيترولين إلى اورنئين ) أمكن ملاحظته في خلايا البكتيريا Streptococci

ويبدو أن هذا التفاعل له أهمية خاصة ، حيث تتكون نتيجة له رابطة فوسفوتية غنية بالطاقة . وحمض الكارباميل جلوتاميك يتكون من حمض الجلوتاميك الذى يكون فى حالة توازن مع حمض الاسبارتيك . والمركب الأخير يتدخل فى عملية تحول الستريولين إلى ارجنين . وحيث أن كل من حمض الجلوتاميك والاسبارتيك تتكون نتيجة لتثبيت الأمونيا (شكل ١١٦) فإن الخلايا الحيوانية تستغل هذه المركبات فى تحويل الأمونيا إلى يوريا تفرز خارج الجسم . وفى حالة البكتيريا عموماً ، فإن هذه العملية يبدو أنها عدمية الأهمية وأن تحول الارجنين إلى سترىولين ثم إلى اورنوثين يبدو أنه يحدث فى الاتجاه المضاد . والارجنين يبدو أنه يتدخل فى تكوين حمض الالفامينواديك  $\alpha$ -amino adipic acid والذى يعتبر مركباً مبدئياً لحمض اللايسين ، كما يبدو أن حمض الارجنين يمكنه اعطاء مجموعة الجوانيدو إلى مركبات أخرى مثل الجليسين ليكون مركب الجوانيدو استيك والذى يعتبر أساسياً لتكوين الكرياتين creatine وهذا التفاعل الأخير يحدث فقط فى الأنسجة الحيوانية وليس بالبكتيريا .

وإذا رجعنا إلى الاورنوثين مرة أخرى فأننا نجد أنه عقب عملية إزالة مجاميع الأمين الطرفية منه تتكون مركبات وسطية تؤدي إلى تكوين حمض الجلوتاميك أو البرولين والأخير قد يتحول إلى اورنوثين مرة أخرى . (وشكل ١٢٠) يبين كيفية ارتباط كل هذه التفاعلات ببعضها وعلاقة هذه التفاعلات ببعض نواتج التحولات الايضية للكربوايدرات .

١٢ — اللايسين Lysine : يشترك فى كل التفاعلات العامة فيما عدا عملية إزالة المجاميع الأمينية . ويبدو أن هذا الحمض ينشأ من أحد مركبين الأول حمض داي امينوبيميليك diaminopimelic acid وهذا المركب لا يتواجد إلا فى البكتيريا والطحالب الخضراء المزرقة . الا أن الاكتيوميسيتات قد تحتوى على مادة شبيهة به تكون محتوية على مجاميع ميثايل . وقد وجد أن البكتيريا الكروية الموجبة لصبغة جرام لا تحتوى على diaminopimelic acid

ويبدو أن هذا الحمض منتشر انتشارا واسعا في البروتينات البكتيرية لأهميته في تكوين الجدر الخلوية في حين أنه يكون غائبا من البروتينات الأخرى . وحمض الدايامينويميلىك يحتوى على مجموعة كربوكسيلية زائدة لذلك نرى أنه يمكن لللايسين أن يتكون منه نتيجة عملية decarboxylation والتي يمكن إثبات حدوثها في البكتيريا *E. coli* وفي حالة الكائنات التي لا تحتوى على حمض دايامينويميلىك في بروتيناتها مثل فطر *Neurospora* فإن حمض اللايسين يتكون بها عن طريق آخر وهو إضافة مجموعة أمين إلى حمض الالفامينو اديبيك  $\alpha$ -amino adipic والذي قد يشتق من تحليل الارجنين كما هو موضح (بشكل ١٢٠)

#### الأحماض الأمينية الحلقية :

هناك ثلاثة أحماض أمينية حلقية وهي الفينيل آلانين . والتريوسين ، والتربتوفان . تنشأ أساسيا من حمض الشيكيمييك shikimic acid والذي سبق أن أشرنا إليه (الباب الرابع) .

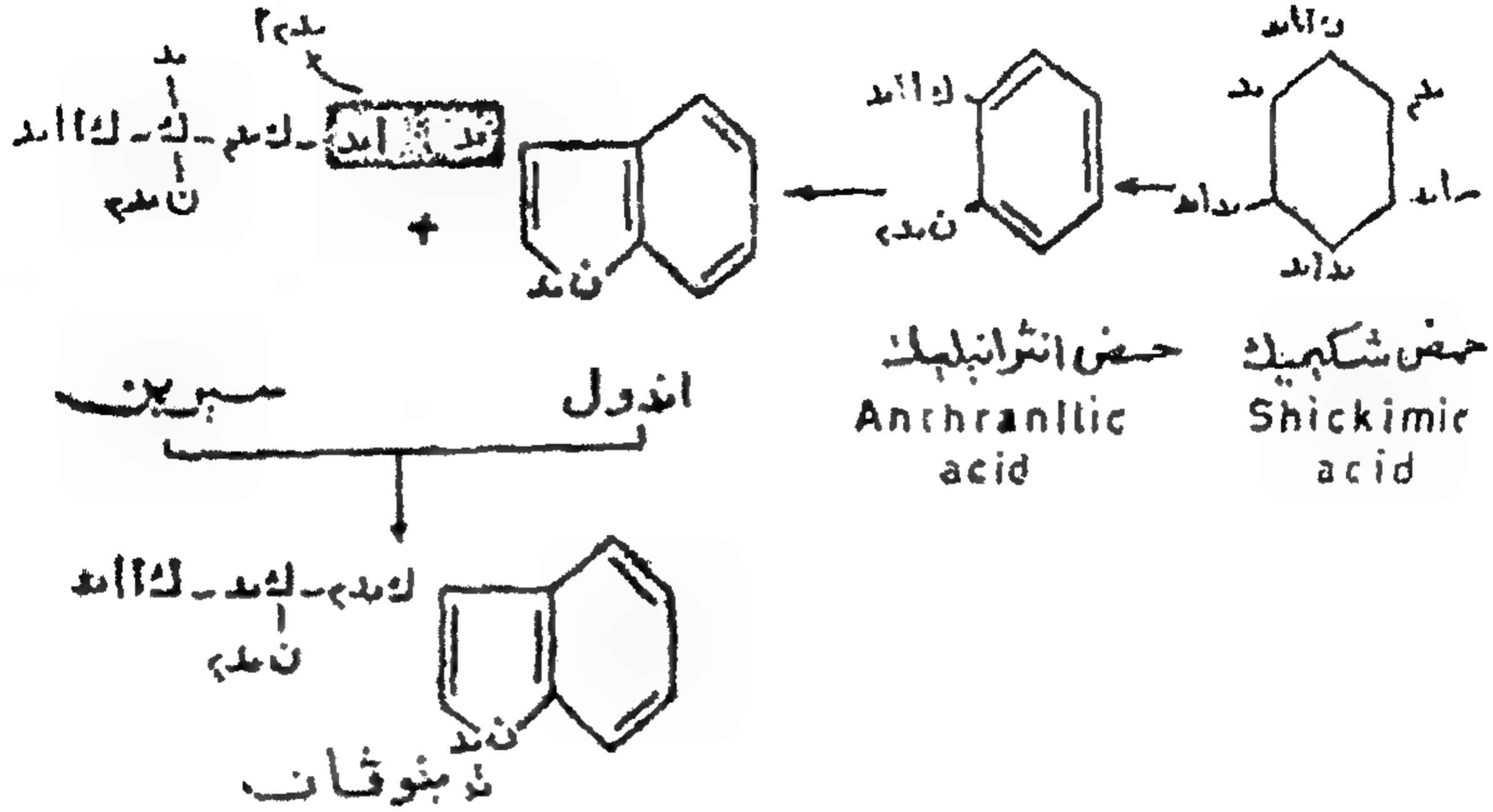
١٣ — حمض الفينيل الآنين phenylalanine : ينشأ من حمض الشيكيمييك كما يمكن له أن يقوم بكل التفاعلات العامة للأحماض الأمينية . علاوة عن امكان تأكسده ليتحول إلى التريوسين .

١٤ — تايروسين Tyrosine : يمكنه أن يقوم بكل التفاعلات العامة للأحماض الأمينية . وينشأ من الفينيل الآنين ، كما يمكنه أن يتأكسد ليكون عديدا من المركبات الوسطية بعضها عبارة عن صبغات سوداء أو برتقالية اللون.

١٥ — تربتوفان Tryptophane : يشترك في كل التفاعلات العامة فيما عدا عملية decarboxylation ويتكون نتيجة لتكديس حمض السيرين الأميني مع مركب الاندول . ومن المعروف أن بعض البكتريات مثل *E. coli* يمكنها أن تنتج مركب الاندول إذا تواجد حمض التربتوفان الأميني ببيئاتها .







شكل ١٢١ : خطوات تخليق التربتوفان .

ويعمل التربتوفان كمادة مبدئية لتكوين المركب الهرموني المعروف باسم حمض الاندول خليك indole acetic acid الذي تكونه بعض البكتيريا والذي يمكنه أن يتحلل بواسطة البكتيريا الهوائية إلى مركبات عديدة من ضمنها حمض كينولينيك Quinolinic acid وكذلك إلى حمض النيكوتينيك Nicotonic acid .

١٦ - البرولين Proline : يحدث له كل التفاعلات العامة فيما عدا الـ decarboxylation كما يعمل كمركب مبدئي في تخليق الأورنوثين كما سبق أن بينا .

١٧ - هيدروكسي برولين Hydroxyproline : يتواجد هذا المركب دائماً بين مخلفات هضم البروتين وبالرغم من ذلك لا يوجد كائن حي دقيق يحتاج في نموه إلى إضافة هذا المركب . وقد وجد أنه عند توفير هذه المادة ، (بعد تعليمها بالنظائر المشعة) بالأنسجة الحيوانية فإنها لا تدخل في تكوين البروتينات ، الأمر الذي يدعونا إلى الاعتقاد بأن هذا المركب لا يتواجد على صورته المعتادة بالبروتينات الكاملة ولكنه يشتق من مركبات أخرى عند تحليل البروتينات نفسها .

١٨ — الهيستدين Histidine : يشترك في كل التفاعلات العامة للأحماض الأمينية فيما عدا عملية إزالة المجاميع الأمينية . وحلقة الإيميدازول imidazolering المحتوي عليها ، والتي تشبه كثيرا في تركيبها البريميدينات ، تشتق من حمض الثورميك إلا أن كيفية تخليق باقي مكونات جزيء الهيستدين لازالت غير معروفة .

وعقب عملية decarboxylation التي تحدث لهذا الحمض الأميني فإنه ينتج مركب الهيستامين والذي يمكنه أن يفقد مجموعة الأمين deaminated ليكون الدهيد الإيميدازول imidazole aldehyde الذي يتأكسد فيما بعد . وبالرغم من التشابه في تركيب الهيستدين والبيورينات إلا أنه لا يدخل في تركيبها إطلاقا .

### بناء البروتين

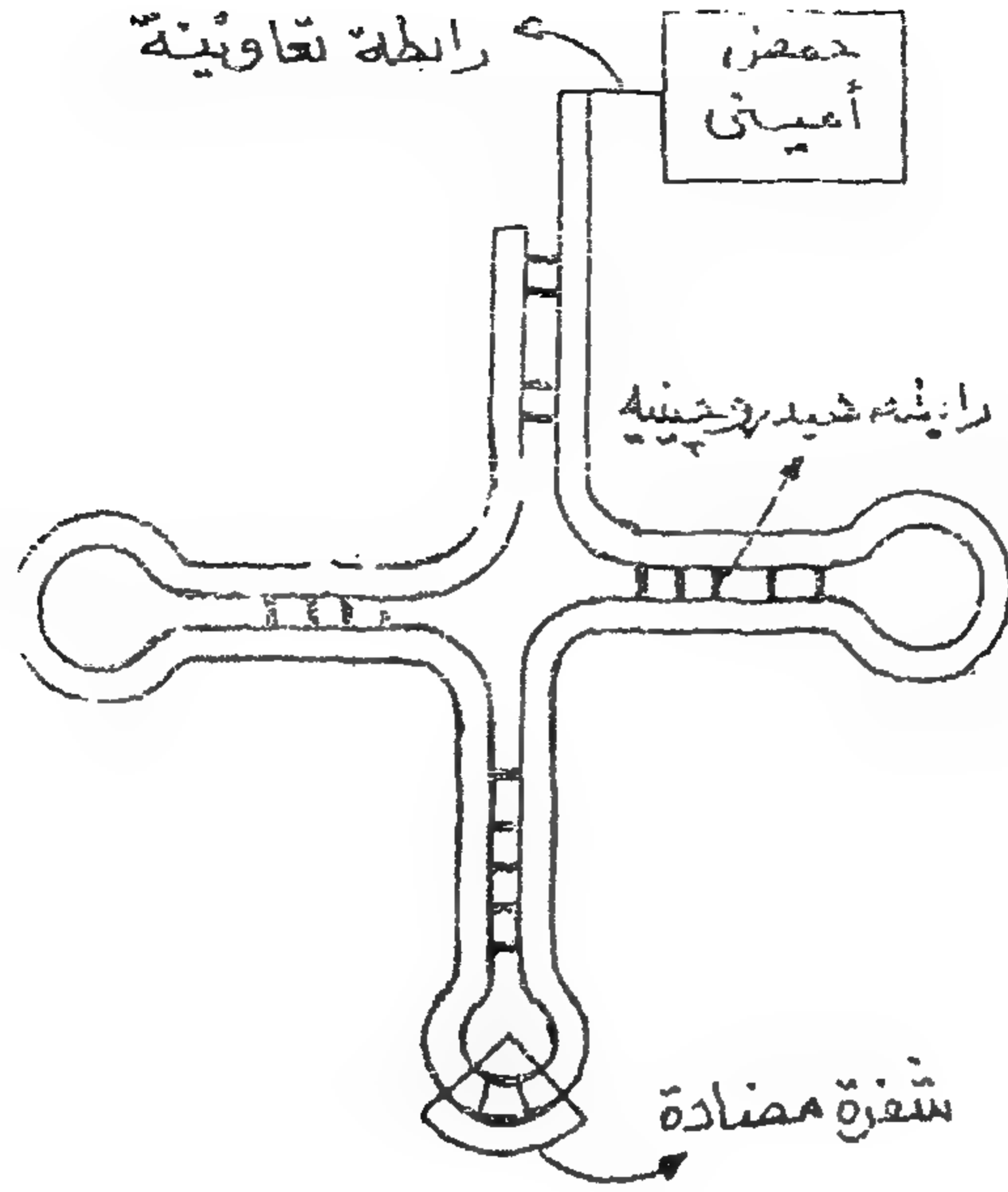
إن تتابع البيورينات والبريميدينات في تركيب الـ DNA المكون للحيئات هو المسئول عن المعلومات الوراثية الموجودة في الخلية وأن أول خطوة في التعبير عن الجين هي عملية النسخ transcriptoin إذ يرتبط إنزيم RNA polymerase بالـ DNA المكون للكرموسوم البكتيري بالقرب من بداية الجين (أي بداية النيكليوتيدات المكونه للجين) ثم يتحرك على إمتداده ويتخلق شريط مفرد من جزيء الـ RNA والذي يكون مكملا لشريط مفرد من الـ DNA . ويطلق على جزيء الـ RNA هذا اسم RNA رسول (messenger RNA) أو (m.RNA) بعد ذلك يترجم تتابع البيورينات والبريميدينات في الـ RNA رسول إلى تتابع للأحماض الأمينية في جزيء البروتين المتكون والذي يتحكم في تركيبه الشفرة التي يحملها الجين . ويشتمل هذا النظام على عدة إنزيمات وعوامل بروتينية protein factors وطرازين آخرين من الـ RNA هما RNA الناقل (transfer RNA أو tRNA) و RNA الريبوسومي (r RNA أو ribosomal RNA) . ومن الملاحظ أن الخطوات الخاصة ببناء البروتين في الخلية

تستهلك ما يقرب من ٩٠٪ من الطاقة الكلية بالخلية البكتيرية النامية وتتلخص الخطوات الأساسية لبناء البروتين فيما يلي : —

**الخطوة الأولى :** يتم تنشيط جزيئات الأحماض الأمينية المختلفة عن طريق تكوين رابطة غنية بالطاقة بين الحمض الأميني وجزيء RNA الناقل ويلزم لتنشيط الحمض الأميني activating enzyme يختلف باختلاف آلاف الحمض الأميني . بمعنى أن لكل حمض أميني مجموعة من جزيئات الـ RNA الناقلة . وفي حالة بعض الأحماض الأمينية المعينة فإنها تحمل بواسطة عديد من جزيئات الـ RNA الناقل المختلفة . فهناك خمسة أنواع من هذه الجزيئات لها القدرة على الإتصال وحمل نفس الحمض الأميني . وبكل جزيء من الـ RNA الناقل يوجد ترتيب معين للنوكليوتيدات أحد هذه الترتيبات يحدد الحمض الأميني الذي يرتبط به ومجموعة أخرى تكون مكملة لترتيب القواعد في جزيء الـ RNA رسول والمجموعة الأخيرة تتكون من ثلاثة نوكليوتيدات ويطلق عليها اسم الشفرة المقابلة أو المضادة anticodon نظرا لأنها مكملة للشفرة العادية المعروفة ، باسم Codon والتي هي عبارة عن ثلاث قواعد في الـ RNA رسول والتي تعني RNA حمض أميني معين وشكل ١٢٢ يوضح تركيب الـ RNA الناقل . ومن الملاحظ أن جزيء الـ RNA الناقل عموما يتخذ شكل ورقة البرسيم وتتكون من حوالي ٧٠ نوكليوتيدة .

**الخطوة الثانية :** يرتبط الريبوسوم بطرق جزيء الـ RNA رسول عند موقع مبدئي معين ولهذا الموقع أهمية خاصة حيث تبدأ عنده ترجمة الـ RNA رسول للإطار الصحيح للشفرة .

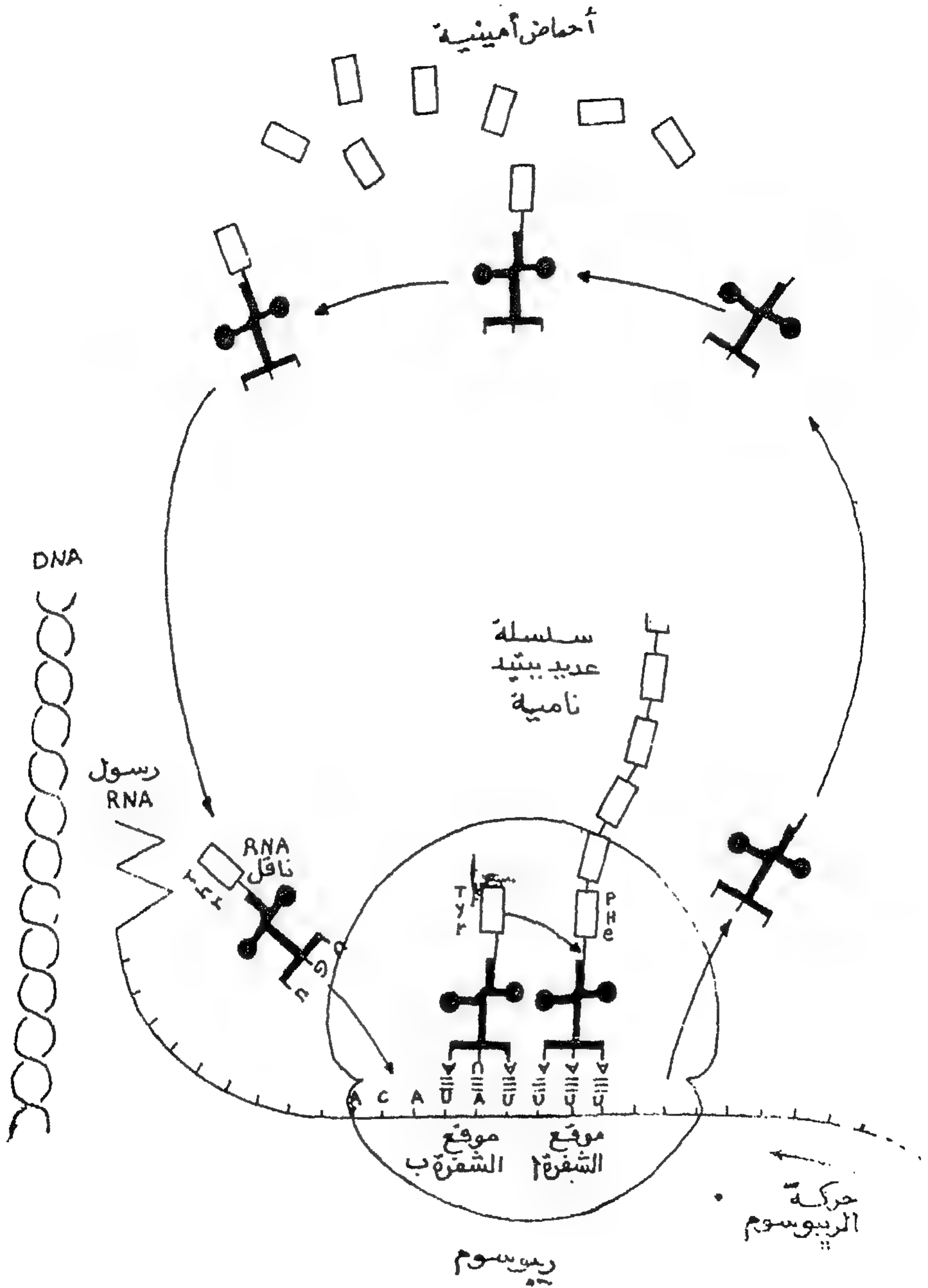
**الخطوة الثالثة :** يتلازم الـ RNA الناقل والذي يحمل الحمض الأميني مع الريبوسوم ويرتبط جزيء الـ RNA الناقل مع الريبوسوم في مكان معين حيث أن الشفرة المقابلة anticodon تكون مكملة للشفرة الخاصة بالـ RNA رسول .



شكل ١٢٢ : تركيب الـ RNA الناقل .

وعندما يثبت الحمض الأميني المحمول بواسطة الـ RNA الناقل في هذا الموضع المحدد فإنه يوجد إنزيم يساعد في تكوين رابطة بيتيدية بين مجموعتي الكربوكسيل والأمين لإثنين من الأحماض الأمينية لجزئين متجاورين من الـ RNA الناقل .  
تحرر عقب ذلك الحمض الأميني من الـ RNA الناقل ثم يتحرك الـ RNA الناقل الحالى بعيدا عن الريبوسوم ليرتبط بحمض أميني آخر .

الخطوة الرابعة : يتحرك الـ RNA رسول على إمتداد الريبوسوم خلال مسافة ٣ نيكوتيدات (شفرة واحدة) وعلى ذلك فإن الشفرة التالية للـ RNA رسول تكون في وضع يسمح بإرتباطها بجزء من الـ RNA الناقل . وعلى ذلك فإنه يتحرك الـ RNA رسول على إمتداد الريبوسوم فإن ريبوسومات أخرى تتصل بطرف الـ RNA رسول . وأن ٥ أو ٦ ريبوسومات يمكن أن تتصل بمواقع مختلفة لنفس جزيء الـ RNA رسول لتكون عديد الريبوسوم polyribosome . (شكل ١٢٣) .



شكل ١٢٣ : خطوات بناء البروتين



الخطوة الخامسة : تنمو السلسلة الببتيدية بإضافة الأحماض الأمينية ولبناء سلسلة ببتيدية نموذجية يحتاج الأمر إلى تكرار الخطوات من ١ إلى ٤ ، ٣٠٠ مرة لتخليق سلسلة كاملة . ويتم تخليق سلسلة ببتيدية كاملة على كل ريبوسوم ويبدأ ذلك عندما يتصل الريبوسوم ببداية (أحد الأطراف) جزيء الـRNA رسول وينتهي عندما يصل الريبوسوم عند إشارة محددة للتوقف ( Stop signal ) عند هذه الإشارة فإن سلسلة عديد الببتيد تنفصل عن طرف جزيء الـRNA الناقل . وأن الـRNA رسول يواصل تحركه عرضا على سطح الريبوسوم وتخلق سلسلة ببتيدية أخرى بتكرار الخطوات من ١ إلى ٥ .

## المراجع

- Bergmann, M. and J. S. Fruton. 1941. The specificity of proteinases  
Advances in Enzymolo., 1 : 63.
- Bergmann, M. 1942. «A. classification of Proteolytic enzymes. Advances  
in Enzymol. 2 : 49.
- Blaschkko, H. 1954. The amino acid decarboxylases in mamalian  
tissues. Advances in Enzymolo. 5 : 67.
- Gale, E. F. 1940. Enzymes concerned in the primary utilization of  
Amino acids by bacteria. Bact. Rev., 4 : 135.
- Gale, E. F. 1946 «Amino - acid decarboxylases» Adv. in Enzymol. 6 : 1
- Gale, E. F. 1947. Nitrogen metabolism, Ann. Rev. Microbiol 1 : 141.
- Gale, E. F. 1952. The chemical activities of bacteria. Academic Press,  
Inc. New York. University Tutorial London.
- Herbst, R. M. 1944. «Transamination reaction «Advance in Enzymolo.  
4 : 75
- Lerner, A. B. 1953. «The metabolism of Phenylalanine and Tyrosine  
Advances in Enzymol., 14 : 73.
- Nester, E. W., C. E. Roberts N. N. Pearsall and B. J. Mc Carthy. 1978.  
Holt. Rinehart and Winston. New York.
- Oginsky, E. L. W. W. Umbreit, 1954 An introduction to bacterial physiology  
W. H. Freeman and Co. San Francisco.
- Street, .H. E. 1949. Nitrogen metabolism of higher plants. Advances in  
Enzymolo., 9 : 391.
- Virtanen, A. I. 1947. The biology and chemistry of nitrogen fixation by  
legume bacteria. Biol. Rev. 22 : 239.
- Vilson, W. P. 1952. The comparative biochemistry of nitrogen fixation  
Advances in Enzymol. 13 : 345.



## الفصل الخامس

### التحولات الايضية للمواد الأخرى

أن طرق تحول الكربوايدرات والبروتينات السابق مناقشتها في البابين السابقين يمكنها أن تمتد إلى غيرها من المواد . وهناك كثير من المواد قد تتحلل بطرق مختلفة إلا أنها قد تتضمن نفس المركبات الايضية الوسيطة للكربوايدرات أو البروتينات . والفائدة الرئيسية التي تعود على الخلايا نتيجة لحدوث مثل هذه التحولات هي نفس الفائدة التي تتحلل من أجلها الكربوايدرات ، أى الحصول على الطاقة وإيجاد المواد اللازمة لعمليات البناء إلا أن الانزيمات التي تساعد على تحليل هذه المواد تختلف عن تلك الخاصة بتحليل البروتينات أو الكربوايدرات .

ويشمل هذا الفصل مناقشة التحولات الايضية لمجموعة متباينة من المواد هي : الدهون ، والمركبات الحلقية العطرية aromatic structure compounds وكذلك تحولات الأحماض النووية .

#### ١ - التحولات الايضية للدهون Metabolism of Fats

تحتوى خلايا البكتيريا على دهون وهى عبارة عن إسترات الجليسرول مع الأحماض الدهنية كما تحتوى أيضاً على شموع وهى عبارة عن الاسترات الكحولية الوحيدة لهذه الأحماض ( monoalcoholic esters ) ، كما أنها تحتوى أيضاً على دهون أكثر تعقيداً (وهى الدهون الفوسفاتية phospholipids )

ومن الأمثلة الواضحة في البكتيريا التي تحتوى خلاياها على نسبة مرتفعة من الدهون تلك التابعة لجنس *Microbacterium* والذي يحتوى على صوراً مميزة منها . والبكتيرياات عموماً تحتوى على نسبة معينة من الدهون بمحتوياتها الخلوية تتراوح بين ( ١ - ٥٠٪ ) من وزنها الجاف .

وهذا والفطريات والخمائر يبدو أنها تحتوى على نسبة أكبر من الدهون تتراوح بين ١٠ - ٢٥٪ . وعموماً فإن نسبة الدهون بالخلايا الحية تختلف ، باختلاف الظروف البيئية .

وليس هناك أى شك فى أن بعض الدهون تتواجد فى الأغشية السيتوبلازمية وأن وجودها يساعد هذه الأغشية على أداء وظيفتها ، وتمثل البكتيريا *Thiobacillus thiooxidans* مثلاً واضحاً فى هذه الحالة ، حيث يمكنها أكسدة الكبريت بعد إذابته فى محتوياتها من الدهون غير المشبعة التى تتواجد فى سيتوبلازمها فى صورة فقائيع globules .

وإذا ما تواجدت الدهون بالبيئة النامى عليها بعض الأنواع البكتيرية فإن بعضها منها يستغل وتستهلك بهذه الخلايا ، وأول ما يحدث لها هو تحليلها بفعل الانزيم ليباز lipase الذى تفرزه الخلايا خارجياً والذي يمكنه أن يحول الدهون إلى جليسرول (يمكن استغلاله عن طريق انزيمات تحولات الكربوايدرات) ، وأحماض دهنية . وتختلف الأحماض الدهنية باختلاف طبيعة الدهون المحللة . ولكنها غالباً أحماض دهنية مشبعة ذات ١٤ - ١٨ ذرة من الكربون وعلى الأخص حمض البالمتيك palmitic acid والستياريك stearic acid .

وقد قام باركر وزملاؤه (١٩٤٦) بدراسة طريقة تجهيز حمض البيوتيريك بواسطة البكتيريا *Clostridium kluyveri* غير الهوائية اجباراً والتي يمكن عزلها من الطين . ووجد أن هذه البكتيريا لا تستعمل الجلوكوز بل تتطلب كحول الايثانول وحمض عضوى (ذو سلسلة قصيرة) مثل حمض الخليك لكي تنمو . وتحصل هذه البكتيريا على الطاقة اللازمة لها من تحويل هذه المواد واستعمالها فى تخليق أحماض دهنية أخرى ، وفى هذه الظروف يمكنها أن تكون حمض البيوتيريك ، وحمض الكابرويك caproic acid مع انطلاق الايدروجين .

وعند تعليم ذرة الكربون فى مجموعة الكربوكسيل لحمض الخليك المضاف



(ك يـم - ك ايد) فانه أمكن متابعة الكربون المشع في جزيئات الأحماض الدهنية المتكونة مثل (حمض بيوتيريك ك يـم - ك ايد - ٢ - ك يـم - ك ايد) و (حمض كابروليك ك يـم - ك ايد - ك يـم - ك ايد) وهذا يبين أن هذه الأحماض قد تكونت من حمض الحليك المضاف والمحتوى على الكربون المشع . وقد أمكن الحصول على مستخلصات من خلايا هذه البكتيريا يمكنها القيام بنفس التفاعلات في غياب الخلايا الكاملة وفي وجود حمض الحليك وكحول الايثايل في ظروف غير هوائية . وقد وجد أن كحول الايثايل يتأكسد. أولاً إلى أسيتالدهيد والآخر يتحول إلى فوسفات الاسيتايل مع انطلاق ايدروجين وأن الأخير يستعمل في إختزال فوسفات الاسيتايل وحمض الحليك مكونا حمض بيوتيريك .

وقبل مناقشة طرق تخليق الأحماض الدهنية أو هدمها يلزم أن نستعرض المرافق الانزيمى (١) (Coenzyme A) والذي سبقت الإشارة إلى كيفية تكوينه عند مناقشة التحولات الايضية للكربوايدرات وأن هذا المرافق الانزيمى يخدم كعامل انتقال لمجموع الاسيتايل أو لأجزاء من الأحماض الدهنية من حمض دهني إلى آخر . بمعنى أنه يمكن ملاحظة (مرافق أنزيمى ١) حاملاً لمجموعة أسيتيل (acetyl-Co A) أو حاملاً لمجموعة بيوتيريل (butyryl Co.A) أو حاملاً لمجموعة أسيتواستيك (acetoacetic-Co.A) ، وهذه المواد تتفاعل بطرق مختلفة مؤدية إلى تكوين الأحماض الدهنية وبالتالي إلى تكوين الستيريودات steroids أو البيورينات أو البريميدينات . وتتلخص خطوات المرافق الانزيمى ١ ذو مجموعة الاسيتيل (acetyl Co. A) (شكل ١٢٤) فيما يلي

(١) يتفاعل انزيم خاص مع مركب الادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) ليكون مركباً معقداً من الانزيم وحمض الادينيليك (enzyme adenylic complex). وينطلق نتيجة لذلك مجموعة فوسفات غير عضوية. (٢) يتفاعل هذا المركب المعقد مع المرافق الانزيمى في صورته المنزلة (مرافق ١ - ك يـم)



- (٢) انزيم - حمض ادينيليك + (مرافق ا- كبد) ←  
 انزيم - كبد - (مرافق ا) + حمض ادينيليك  
 (٣) انزيم - كبد - مرافق ا + كبد ا ا يد  
 ← انزيم - كبد - ك ا - كبد - مرافق ا

وبالمثل إذا اتحد (المرافق ا) مع المجاميع الكربوكسيلية للأحماض العضوية فإنها تحمل مثل هذه الأحماض من نظام أنزيمي إلى آخر . وفي بعض الحالات يمكن (للمرافق ا) أن يقوم بوظيفة أكثر تعقيدا حيث أن المركب المعقد الناتج من اتحاد (المرافق ا) مع الحمض العضوي يقوم بنفسه أو في حد ذاته بالتفاعل بمعنى أن كل من عمليات تخليق أو هدم الأحماض الدهنية تتم عن هذا الطريق (شكل ١٢٤) .

ويتبين من الدورة الأولى (بشكل ١٢٤) أن التفاعلات تبدأ بتكدس جزيئين من المرافق المحتوى على مجموعة اسيتيل ( $\text{ecetylCo. A}$ ) ليتكون منها المركب (خليلك - مرافق ا) ثم يختزل المركب الأخير ليكون مركباً آخر هو (البيتاهيدروكسى بيوتيرك - مرافق ا) وهذا يفقد جزيء ماء ثم يختزل مرة أخرى ليتحول إلى (بيوتيريك - مرافق ا) والنتيجة النهائية هو تكون حمض دهني ذي أربعة ذرات كربون . وكما هو مبين بالدورة الثانية بشكل ١١٦ يمكن (للبيوتيريل - مرافق ا) أن يتحد بجزيء آخر من (مرافق ا-اسيتيل) حيث يتكون مركب جديد هو (البيوتيريل - اسيتيل مرافق ا) + (مرافق ا) مختزل . والمركب الأول يمكنه أن يختزل ثم يفقد جزيء ماء ثم يختزل مرة ثانية ليكون حمض دهني جديد يحتوى على ست ذرات كربون + (مرافق ا) من الواضح أن الحمض الدهني الجديد نشأ نتيجة لتكدس مركبين أحدهما ذو أربع ذرات كربون وآخر ذو ذرتين (مرافق ا-اسيتيل) وبالمثل يمكن تكون حمض دهني يحتوى على ثمانى ذرات كربونية من تكدس (٦+٢) وآخر يحتوى على عشر ذرات كربونية من تكدس (٨+٢) وهكذا يتكون حمض

حمض دهني جديد يزيد في محتوياته الكربونية عن طريق إضافة مجموعة اسيتيل إلى نهاية الحمض الدهني الأصلي عند مجموعته الكربوكسيلية .

هذا وتحلل الأحماض الدهنية يبدو أنه يتبع نفس الطريق حيث يبدأ التحلل بتحويل الحمض الدهني إلى صورته المتحدة مع (المرافق) .

وقد كان يعتقد إلى عهد قريب أن سلاسل الأحماض الدهنية تتحلل تدريجيا بانفصال مجاميع اسيتيل (ذرتين من الكربون) مرة تلو الأخرى ولكن وجد أن هذا ليس صحيحا إذا ما أخذ في الاعتبار الحقيقة التالية . إذا كان تحلل هذه الأحماض يحدث بانفصال ذرتين من الكربون في كل مرة فانه عند تحلل حمض دهني ذو سلسلة طويلة (١٨ ذرة كربون) ، يشترط أن نشاهد مجموعة من الأحماض الدهنية الناتجة عن مثل هذا التحلل تحتوي على مايلي من ذرات الكربون (٤ ، ٦ ، ٨ ، ١٠ ، ١٢ .. وهكذا) . ولكن الذي يحدث أننا نشاهد مجاميع اسيتيل + بقايا الحمض المتحلل المحتوية على ١٦ ذرة كربون ، وأحيانا نشاهد مركبات تحتوي على ٤ ذرات من الكربون (اسيتواسينات) وتفسر هذه الحقيقة بأن المواد الوسطية في التحليل لا تظهر في صورتها الحمضية الحرة ولكن في صورتها المرتبطة بالمرافق الانزيمي .

وحيث أن كمية المرافق الانزيمي تكون محدودة فاننا سنجد فقط آثار من المركبات الوسطية على صورة أحماض حرة أثناء التحلل . وعموما يمكن القول بأن الحمض الدهني يتحلل نتيجة لأكسدته أكسدة كاملة والتي تحدث لكل جزيء من جزيئاته واحدا تلو الآخر .

وهناك حقيقة أخرى يبدو أنها لم تدرس بعد وهي أن أكسدة الأحماض الدهنية ذات السلاسل الصغيرة التي يتراوح عدد ذراتها من الكربون بين ٢-١٠ ذرة ، تختلف بطريقة ما عن أكسدة الأحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة (١٣ - ١٦ ذرة كربون) ، بالرغم من تشابه طرق تحللها . فمثلا في

حالة البكتيريا التابعة لجنس (*Mycobacterium*) ، نجد أن وجود المضاد الحيوى ستربتومايسين يمنع أكسدة الأحماض الدهنية ذات السلاسل الطويلة ولا يمنع أكسدة تلك الأحماض ذات السلاسل القصيرة ، وإلى الآن لم يعرف أوجه مثل هذا الاختلاف اللهم إلا إذا كان هناك اختلاف في التركيب البنائى بكل من هذه المجموع من الأحماض الدهنية .

## ٢ — التحولات الايضية للسترويدات steroids والمواد المشابهة

لما زالت طرق تخليق أو هدم السترويدات بالبكتيريا غير معروفة ولكن من المعلومات القليلة المتوفرة حالياً يمكن القول أنها تشبه الطرق الخاصة بتخليقها في الأنسجة الحيوانية ، والتي لازال يعرف القليل عنها هي الأخرى. وفي الدراسات التي تمت على الأنسجة الحيوانية باستعمال النظائر المشعة نفرض أن الاستات acetates والاسيتواسيتات acetoacetates والايروفاليرات isovalerates تظهر في الكوليسترول cholesterol المتكون ، وأن كلا ذرتي الكربون في حمض الخليك تظهر في الكوليسترول الناتج وهذا يدعونا إلى الاعتقاد أن هذه المادة تخلق كلية من حمض الخليك . فمجموعة الميثايل المتواجدة بحمض الخليك تظهر أيضاً في الذرات الكربونية رقم ١٧ ، ١٨ ، ١٩ ، ٢٦ من جزئ الكوليسترول ، والمجموعة الكربوكسيلية من حمض الخليك وجد أنها تظهر في الكوليسترول في الذرتين رقم ١٠ ، ٢٥ .

وفيما يختص بالمركب ايرجوستيرول ergosterol وهو الاستيريول الذي يتكون بالفطريات وجد أنه ينشأ أيضاً من الاسيتات إلا أن خطوات تخليقه منها مازالت غير معروفة . وعموماً فإن البكتيريا وجدت خالية تماماً من مثل هذه المركبات الاسترويدية steroids

## ٣ — التحولات الايضية للمركبات الحلقية العطرية

### Metabolism of Aromatic rings

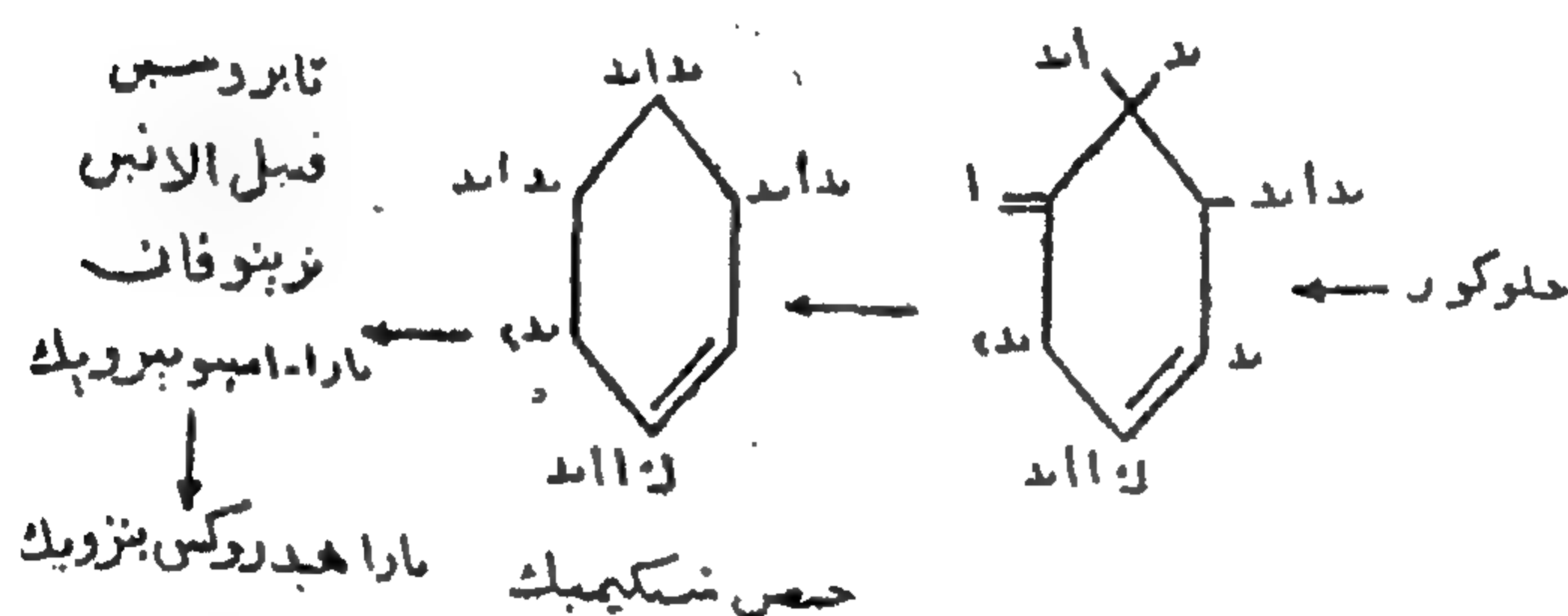
يمكن لبعض البكتريات مهاجمة الحلقات البنزينية Benzene rings



والطريقان المعروفان في هدم هذه المواد يلتقيان عند تكوين حمض بيتا كيتو اديبيك (B - keto adipic) . وكلا من الطريقتين يتضمن تحويل المركب الحلقي إلى حلقة تحتوي على مجموعتين هيدروكسيليتين ، ثم تنقسم الحلقة في المنطقة الواقعة بين هاتين المجموعتين مكونة سلسلة مستقيمة ، ويعقب ذلك أنكسار للسلسلة المستقيمة إلى مركبات وسطية أخرى .

وبعض الأحماض الأمينية مثل التايروسين ، والفنيل الآنين ، والتربتوفان  
والهستيدين ، والبرولين والتي تحتوى على تركيب حلقى ، لها سرعتها التحليلية  
الخاصة كما سبق أن بينا .

هذا وتخليق مثل هذه المركبات الحلقية العطرية يتم في بعض الحالات طبقاً للطريق التالي :



وفي البعض الآخر من الحالات لازالت طرق التخليق مجهولة .

#### ٤-التحولات الايضية للاحماض النووية والبيورينات والبريميدينات

## Metabolism of nucleic acids purines and pyrimidines

بالرغم من غياب التركيب المحدد للنواه بالخلايا البكتيرية إلا أنها تحتوي على مادتها الأساسية . ومن المعروف منذ زمن طويل أن الأنوية تكون غنية بالمواد الحمضية ويتبين أيضاً أن مثل هذه المواد قد تتواجد أيضاً في السيتوبلازم وقد حاول علماء الكيمياء الحيوية وعلماء البيولوجي الحصول على هذه الأحماض وتمكنوا من الحصول على مواد أطلق عليها اسم الأحماض النووية . وبعد

دراسات استمرت فترة طويلة أمكن التعرف على هذه الأحماض من ناحية تركيبها وطبيعتها ووظائفها للخلايا .

وعن هذا الطريق أمكن التعرف على مجموعتين من الأحماض النووية :  
(١) الأحماض النووية المحتوية على سكر الريبوز RNA وهذه تعرف أحيانا باسم أحماض الخميرة النووية yeast nucleic acid أو الأحماض الأمينية السيتوبلازمية cytoplasmic nucleic acids (٢) الأحماض النووية المحتوية على سكر الدايوكسى ريبوز deoxyribose nucleic acids DNA وتعرف أحيانا بأحماض الأنوية الحيوانية أو أحماض الثايمس النووية thymus nucleic acid .

وتتواجد هذه الأحماض النووية بالخلايا مرتبطة مع البروتينات — التى تختلف فى طبيعتها — ونتيجة لهذا الارتباط تتكون المركبات التى تعرف ، بالنيكلوبروتينات Nucleoproteins وعندما تتحلل الأحماض النووية كلية فإن كل مجموعة منها تعطى عدداً قليلاً من المكونات كما هو موضح (بجدول رقم ٢١) . ويلاحظ من الجدول أن نسب المكونات تكون (٤ وحدات سكر خماسى : ٢ يورينات : ٢ بريميدينات : ٤ فوسفات) ، وبالرغم من أن هذه النسب لا تختلف كثيراً عن الأحماض النووية إلا أن نوع اليورينات أو البريميدينات لا يكون متطابقاً باستمرار ، فبعض الأحماض النووية قد تحتوى على نسبة من الادنين أكبر من الجوانين والبعض الآخر قد يحتوى على كمية من السيتوسين أكثر من البريميدينات الأخرى .

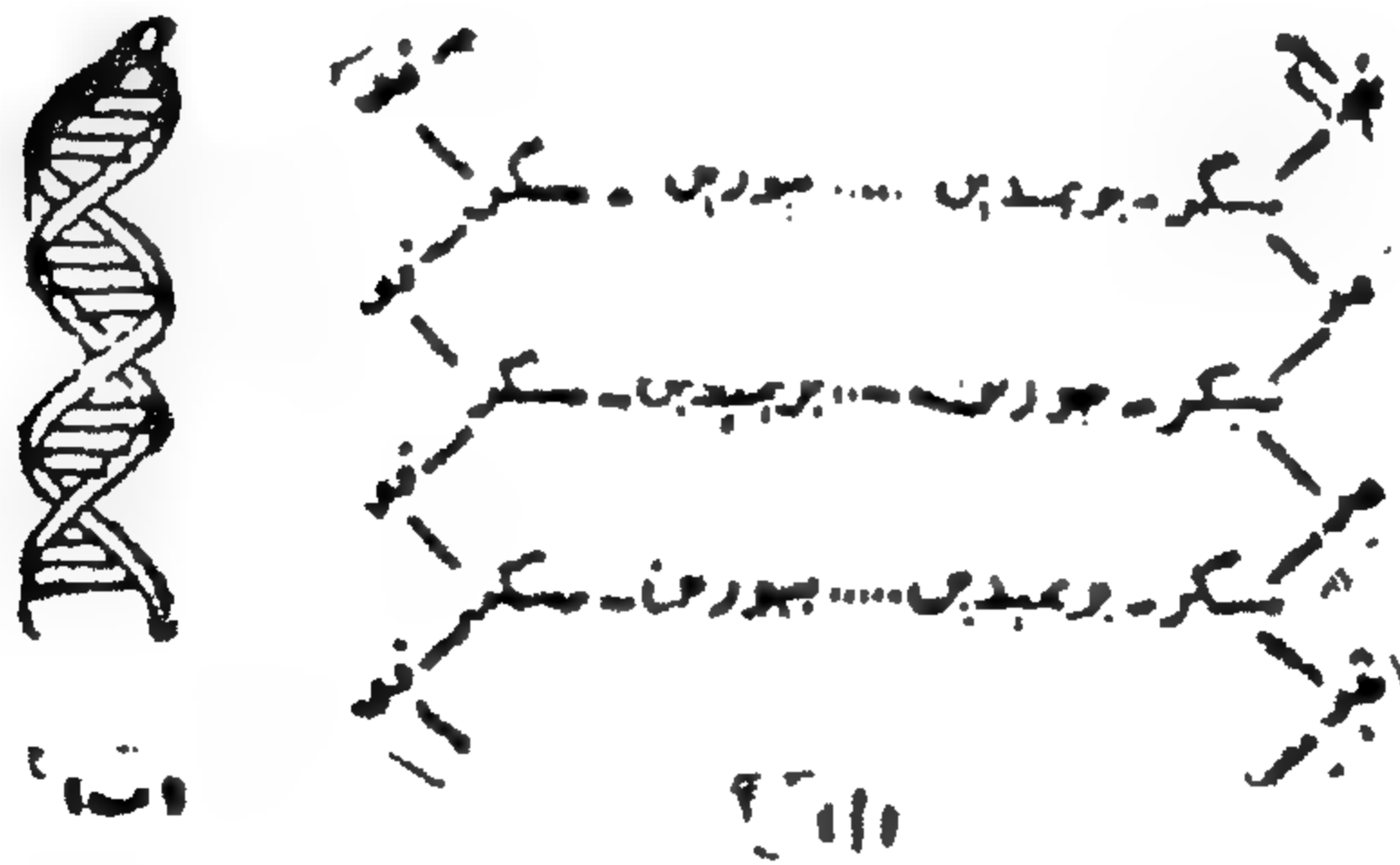


ففي حالة DNA نجد أن كل وحدة ادينين يقابلها وحدة من الثايمين وكل وحدة من الجوانين يقابلها وحدة من السيتوسين (أو ميثايل سيتوسين في حالة الأحماض النووية لبعض النباتات). وكمية الادلين الحقيقية تختلف قليلا من نوع بكتيرى إلى آخر إلا أنه باستمرار تتواجد وحدة ثايمين لكل وحدة ادينين.

جدول رقم ٢٢ : تركيب DNA من مصادر مختلفة .

مصدر DNA	نسبة الادلين إلى الجوانين	نسبة الادلين إلى الثايمين	نسبة الادلين إلى السيتوسين
الانسان	١,٥٦	١	١
الخميرة	١,٦٧	١	١
<i>E coli</i>	١,١٥	١	١
<i>Sarcina marcesens</i>	١,٧	١	١
<i>Myco. tuberculosis</i>	١,٤	١	١

يتضح من البيانات الواردة (بجدول رقم ٢٢) أنه لبناء جزيء DNA يشترط وحدة ثايمين لكل وحدة ادينين ، ووحدة سيتوسين لكل وحدة جوانين ويبين (شكل ١٢٥) رسم تخطيطى لما تعارف عليه العلماء فيما يختص بتركيب جزيئات الـ DNA



شكل ١٢٥ : النموذج المقترح لتركيب جزيء DNA

- (أ) طريقة ارتباط البيورينات والبريميدينات بالفوسفات والسكر الخاسى .  
(ب) سلسلتان متوازيتان ملتفتان بطريقة حلزونية حول محور خاص مشترك .

ويفترض هذا النموذج (شكل ١٢٥ ب) أن جزيء DNA يكون مبنيا من سلاسل متوازية وملتفة على بعضها بشكل حلزون . وهذه السلاسل تتكون من سكريات مفسفرة بحيث تكون البيورينات والبريميدينات بارزة إلى الخارج من كل سلسلة ، فمثلا إذا كانت القاعدة عبارة عن ادينين في أحد السلاسل فإن القاعدة في المكان المكمل والمقابل لها من السلسلة الأخرى تكون عبارة عن ثايمين . وإذا كانت القاعدة في أحد السلاسل عبارة عن جوانين تكون القاعدة في السلسلة الأخرى المقابلة هي سيتوسين وهكذا . والسلسلتان المتوازيتان تلتفان عادة حول محور موحد وخاص . وحيث أن كل سلسلة تعتبر مكاملة للأخرى فإن ذلك يمكنه أن يوضح كيفية تكرار الجزيء . وقد يمكن تخيل إمكان انفصال السلسلتين عن بعضهما ، ففي هذه الحالة يعمل كل منهما على بليق السلسلة الأخرى المرافقة له وهذا يعنى مضاعفة وتكرار التركيب الأصلي بشرط أن يدخل نصف الجزيء القديم في تركيب الجزيء الجديد المتكون .

وفما يختص بتركيب RNA فإنه ليس على مثل هذه الدرجة من التنظيم ولا يعرف الكثير عن تركيبه بدرجة تجعله مختلفا عن تركيب DNA

هذا والبيورينات والبريميدينات والسكريات الخماسية يمكنها أن تتواجد أيضاً في مركبات أخرى بعضها منها يكون قريب الشبه بالأحماض النووية . فعندما ترتبط البيورينات أو البريميدينات مع السكريات فإن المركبات الناتجة تعرف باسم النيوكليوسيدات nucleosides مثل

الادينين — ريبوز = ادينين نيوكليوسيد adenine nucleocide  
ويعرف أيضاً بالادينوسين adenosine nucleoside أو بالإدينين دايوكسى ريبوز أو بالادينين دايوكسى ريبوسيد adenine deoxyriboside .  
أما إذا اتحدت النيوكليوسيدات بالفوسفات فإنها تعرف حينئذ باسم النيوكليوتيدات nucleotides مثل :



ادينين — ريبوز — فوسفات = ادينين كليوتايد = ادينين ريبوتايد = حمض ادينيليك .

وكذلك الادينين — دايوكسى ريبوز فوسفات = ادينين دايوكسى ريبوتايد .

والنيكليوتيدات تعتبر حالات خاصة . فقد تشتق من الأحماض النووية التى تحتوى على فوسفات مرتبطة الذرات رقم ٢ أو الذرة ٣ من السكر الخماسى (ريبوز) . كما أن النيكليوتيدات المحتوية على ادينين يمكنها أن تشتق أيضاً من بعض المرافقات الانزيمية مثل [DPN أو TPN أو FAD-flavine adenine (dinucleotide)] أو (ADP أو ATP . . . الخ) . والتى تتواجد بها مجاميع الفوسفات على الذرة رقم ٥ من السكر الخماسى .

والبيورينات أو البريميدينات وكذلك النيوكليوسيدات أو النيوكليوتيدات المتكونه منها ، يمكنها أن تدخل فى تفاعلات أيضية مختلفة .

ويعرف الآن الطريق الذى يتم به تخليق RNA ، DNA . وقد أمكن التحصل على المعلومات الخاصة بذلك من الدراسات التى تمت على الأنسجة الحيوانية باستعمال النيتروجين المعلم (١٥N) والتى أظهرت أن معدل تخليق وهدم (rate of turnover) الخاص بالـDNA يكون أبطأ من ذلك الخاص بالـRNA . ولكن عند استعمال الفوسفور المعلم (٣٢P) كان معدل تخليق وهدم DNA أسرع من ذلك الخاص بالـRNA وهذا يدل على أن البيورينات والبريميدينات يمكنها أن تدخل وتخرج من تركيب DNA دون حدوث أى تغيير للفوسفات . كما وجد أن كمية RNA بالأنوية تكون قليلة جداً وأن سرعة تخليقه وهدمه داخل النواة تكون أسرع منها فى حالة وجودها بالسيتوبلازم :

وقد أمكن أيضاً التعرف على أن بعض البيورينات الحرة مثل adenine تستعمل فى تخليق RNA فى الخلايا الحيوانية إلا أن مركباتها من النيوكليوسيدات أو النيوكليوتيدات لا تشترك فى تكون RNA ، ومن الناحية الأخرى وجد أن

البريميدينات لا تدخل في تركيب RNA ولكن مركباتها وبخاصة النيوكليوسيدات هي التي تستعمل في هذا الصدد . من ذلك نرى أن طرق تخليق RNA تختلف بدرجة كبيرة عن الطرق الخاصة بهدمها .

معظم الخلايا البكتيرية ، يمكنها القيام بتخليق كلاً من النوعين من الأحماض النووية ولكن بعض البكتيريا تتطلب بعض البيورينات أو البريميدينات الخاصة لكي تقوم بالنمو كما أن هناك بعض الأنواع التي تتطلب وجود النيوكليوسيدات أو النيوكليوتيدات كشرط أساسي لكي تنمو .

واحتياج بعض البكتيريا إلى عوامل النمو (فيتامين) يبين أهمية استعمال هذه المواد في صورتها المجهزة وأن هذا يفترض أن هذه المواد المجهزة تعتبر مكونات للأحماض النووية كما سبق أن بينا . وهذا ليس صحيحاً في كل الحالات حيث أنه علاوة على وجود الأحماض النووية فإن الخلايا البكتيرية قد تحتوي على نيوكليوتيدات يعمل كمراافقات أنزيمية مثل ATP ، DPN .. إلخ ، وأحياناً قد تحتاج الخلايا إلى إضافة بعض النيوكليوسيدات أو النيوكليوتيدات إلى البيئة لكي تتمكن الخلايا من تخليق مثل هذه المرافقات الأنزيمية .

وعمليات هدم الأحماض النووية في الخلايا البكتيرية يبدو أنها تتشابه مع تلك التي تحدث بالخلايا الحيوانية . والتي تتضمن في حالة RNA أولاً انفصال الأحماض النووية من البروتينات النووية نتيجة لحدوث عملية depolymerization وهذا يعني انكسار الجزيء المكون من الأحماض النووية وتكوين عديد النيوكليوتيدات polynucleotides الذائبة والقابلة للانتشار وما يتبقى من البروتين النووي يكون عبارة عن المحور (core) غير القابل الذوبان والمقاوم للتحلل الأنزيمي ويكون محتويًا على نسبة أكبر من الأدينين وعديد النيوكليوتيدات الذاتية والقابلة للانتشار وهذه يمكنها أن تتحول أنزيمياً إلى نيوكليوتيدات فردية . وهذه الأخيرة تشبه كثيراً النيوكليوتيدات المشتقة من تحلل المرافقات

الأنزيمية إلا أنها تحتوي على مجاميع الفوسفات بالذرة رقم ٢ أو رقم ٣ من جزيء سكر الريبوز كما سبق أن ذكرنا ، وإذا انفصلت المجاميع الفوسفاتية عن هذه النيوكليوتيدات تتكون النيوكليوسيدات المتقابلة . ويمكن هنا أن نقرر أن النيوكليوسيدات المشتقة من الأحماض النووية تشابه تماما تلك التي تشتق من المرافقات الأنزيمية .

والتحولات الأيضية للمركبات (nucleosides) الناتجة من التحلل تحدث عن طريق أربع تفاعلات .

(١) أهم تفاعل يمكن أن يحدث هو حدوث تحلل يعرف باسم-phosphorolytic cleavage ليكون بيورينات وبريميدينات حرة مع انفصال ريبوز — فوسفات

(٢) حدوث تحلل مائي ( لا يقتضى وجود فوسفات ) ، وقد أمكن ملاحظة مثل هذا التفاعل في البكتريا *Lactobacillus pentosus* ، وبعض الخمائر ومن مميزات هذا التفاعل أنه غير عكسي بمعنى أن البيورينات الناتجة لا تتحد بالريبوز مرة ثانية لتكون بيورين — ريبوسيد .

(٣) حدوث عممية إزالة المجاميع الأمينية (deamination) أو بمعنى آخر حدوث عملية تأكسد للبيورينات والبريميدينات قبل تحلل النيوكليوسيد .

(٤) هذا النوع من التفاعل يقتضى حدوث تبادل لمجاميع البيورينات أو البريميدينات في جزيء النيوكليوسيد بدون حدوث تحلل مائي أو تحلل فوسفاتي . وإلى الآن لم يشاهد مثل هذا النوع من التفاعلات في الريبوسيدات بل لوحظت في حالة الدايوكسي ريبوسيدات .

ويبدو أنه في حالة RNA فان تحلل النيوكليوسيدات يتم عن طريق التفاعل الأول .

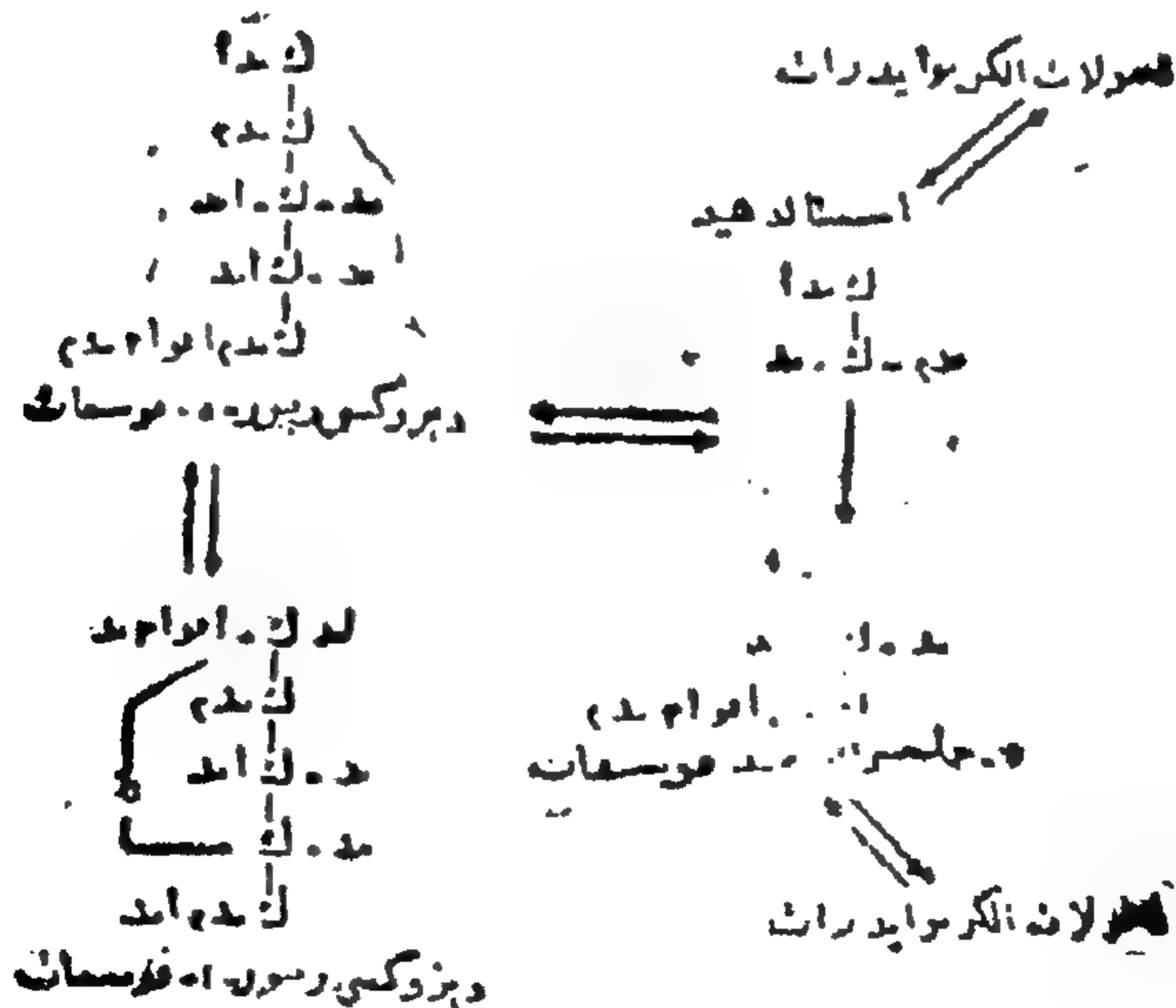
والتفاعلات الأيضية الخاصة بتحليل DNA يبدو أنها تشبه تلك الخاصة

بالـ RNA إلا أنها تكون على درجة أكبر من البساطة . وأن تحليل الداىوكسى ريبونيو كليوسيدات يتم عن طريق تبادل البيورينات والبريميدينات .

وقد تم فيما سبق متابعة طرق تخليق كل من DNA و RNA إلى حد تكون البيورينات والبريميدينات وكذلك السكر الخماسى المفسفر (ريبوز فوسفات) يبقى الآن أن نعرف كيفية تخليق أو هدم هذه المواد الأساسية .

ففيما نختص بطرق تخليق السكر الخماسى المفسفر (ريبوز - ٥ - فوسفات) فقد سبق ذكر ذلك عند مناقشتنا للتحويلات الأيضية للكربوايدرات وفي حالة السكر الخماسى داىوكسى ريبوز فانه يتكون نتيجة لتكدس مركب يحتوى مركب يحتوى على ثلاث ذرات كربون مع آخر يحتوى على ذرتين من الكربون والخطوط العريضة لعملية تخليق هذا السكر مبينة ( بشكل ١٢٦ ) .

هذا والريبوز - ٥ - فوسفات أو الريبوز - ١ - فوسفات يمكنه أن يتحلل ليكون مركب ذو ذرتين من الكربون ( اسيتايل نشط ) ومركب آخر ذو ثلاث ذرات كربونية . وكلاهما من المركبات الخاصة بالتحويلات الايضية



للكربوايدرات . وليس هناك شك في أن الريبوز أو الدايبوكسى ريبوز — ٥ — فوسفات يمكنه أيضاً أن يخلق بالطريق العكسى لتحلله والسابق الاشارة إليه فمن المعروف أنه يمكن للمركبات الثلاثية للكربون المفسفرة triosephosphate أن تتحد بالمركب glycol aldehyde عن طريق انزيم aldolase لتعطى سكر خماسى مفسفر .

والسكر الخماسى (دايبوكسى ريبوز — ٥ — فوسفات) يخلق بالخلايا بنفس الطريقة (شكل ١٢٦) إلا أن الانزيم المختص يختلف عن أنزيم الالدولاز . aldolase.

وقد تم التعرف على كيفية تحليل البيورينات بالاستعانة بالكائنات الحية الدقيقة التى يمكنها تحليل كميات كبيرة من هذه المركبات . والبكتيريات العادية يستعمل عادة كمية صغيرة من نواتج تحليل الأحماض النووية لذلك فان لها طرقاً خاصة تختلف عن الكائنات الأخرى التى يمكنها استهلاك كمية كبيرة من هذه المواد .

وعندما تتحلل البيورينات بفعل الكائنات الحية يكون (ك١٢٦) ، وامونيا وحمض خليك وحمض لاكتيك كنواتج تحليلية . كما أنه لم يسهل تتبع المركبات الوسطية فى مثل هذه التفاعلات ، إلا أنه قد وجد فى حالة البكتيريا Micrococci المحللة للبيورينات ، أن ناتج تحليل البيورينات يعتبر كمواد ووسطية لتخليق البرميدينات فى خلايا هذه البكتيريا .

وباستعمال الأنسجة الحيوانية وجد أن تحليل البيورينات تتبع مايلى من خطوات والمبينة بشكل (١٢٧) .

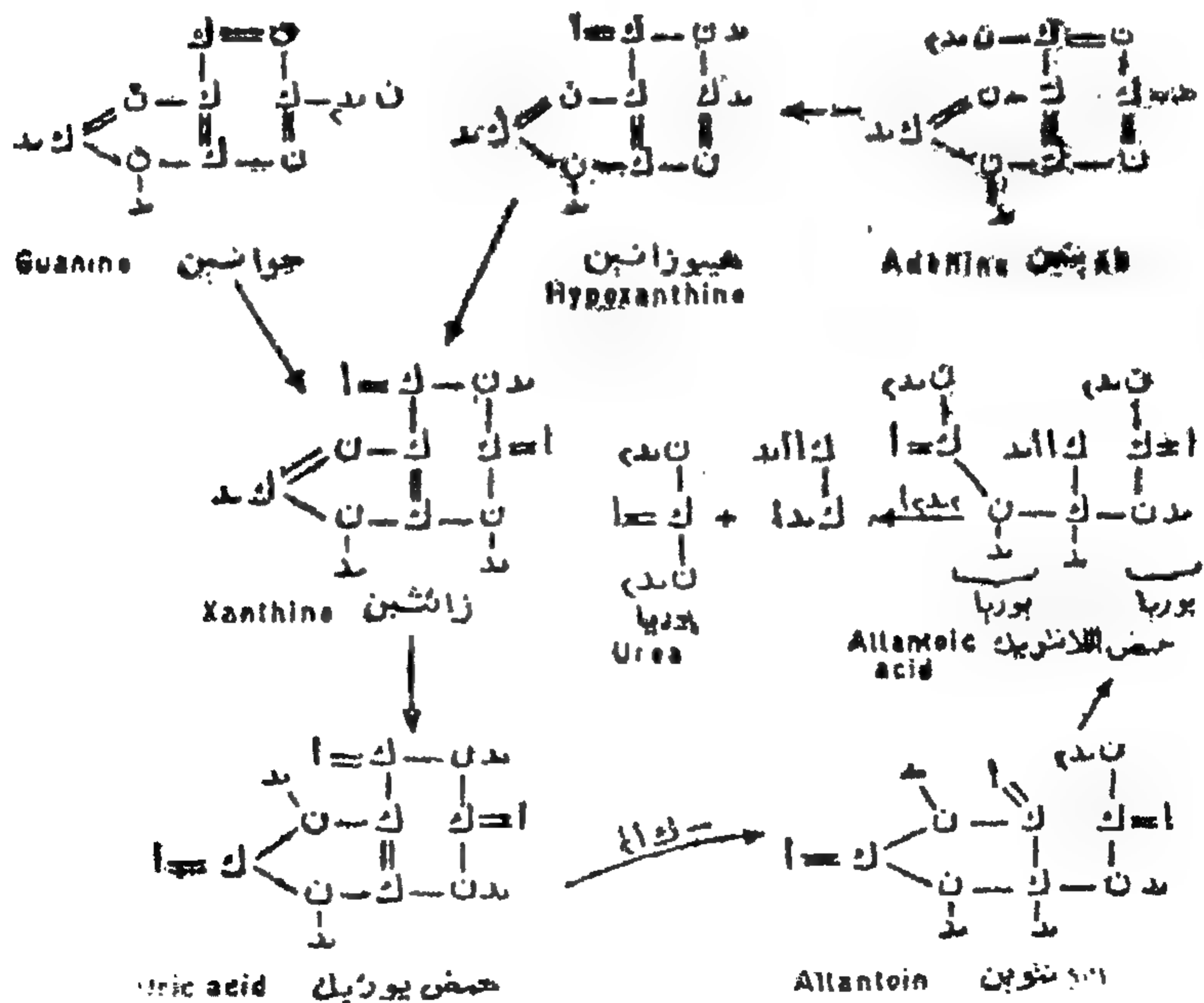
ادنين ← هيبوزانثين hypoxanthine ← زانثين xanthine ←  
حمض يوريك ← allantoin ← allantioic acid ← يوريا .

وقد أمكن مشاهدة خطوات تحليل الجوانين إلى زانثين وكذلك الادنين



إلى هيپوزانثين في البكتيريات . ولكن تختلف البكتيريا عن الخلايا الحيوانية في أن الطرق التي تحول بها الهيپوزانثين إلى زانثين لازالت غير معروفة . إلا أن طرق تحليل البريميدينات نفسها لازالت غير معروفة على وجه التحديد في كل من الخلايا البكتيرية أو الأنسجة الحيوانية .

ويبدو أن مصدر تكون البيورينات والبريميدينات بالخلايا لا يحدث بطريقة عكسي لتحللها . فقد وجد أن البيورينات تتكون من الأمونيا ، وثاني أكسيد الكربون ، والجليسين ، وحمض الفورميك . ومثل هذه النتائج قد تم الحصول عليها بالاستعانة بالأنسجة الحيوانية . وقد وجد أن المركب ( ٤ — امينوبنزيماذول ٥ — كربوكسامايد 4-aminobenzimidazole 5-carboxamide ) يتكون كمركب وسطي ، كما وجد أيضاً أن لحمض الفوليك folic acid دوراً ملحوظاً في هذه العملية . وقد لوحظ تكديس



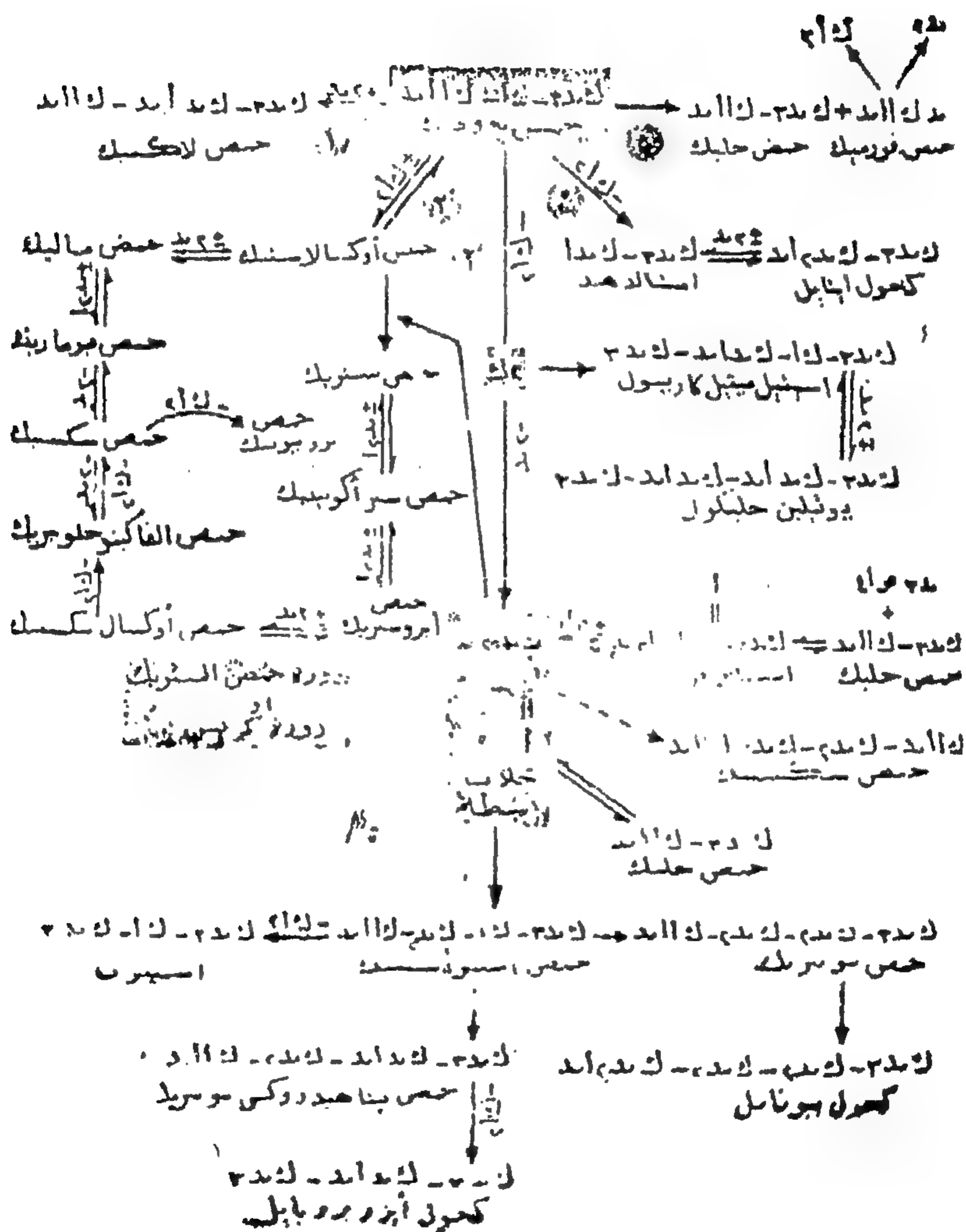
شكل ١٢٧ : خطوات تحلل البيورينات .

مركب كاربو كساميد carboxamide في مزارع البكتيريا *E. coli* التي يتوقف نموها نتيجة لوجود مركبات السلفوناميد بالبيئة ، مما يدل على أن تخليق البيورينات قد يتم تبعا لهذا الطريق .

وفيما يختص بتخليق البريميدينات بالخلايا الحيوانية وخلايا البكتيريا فقد وجد أنها تتخلق من حمض الأوروتيك Orotic acid الذي لم يعرف إلى الآن المصدر الذي يتكون منه. وقد وجد أن كثيرا من بكتيريا حمض اللاكتيك تتطلب إضافة حمض الأوروتيك إلى بيئاتها لكي تنمو ، وأمكن ملاحظة اندماج هذا الحمض بجزئيات البريميدينات .

مما سبق يتضح أنه لازال الكثير من طرق تخليق أو هدم الأحماض النووية غير معروف على وجه التحديد ، كما أن المعلومات الحالية عن الكيفية التي تتحد بها النيوكليوتيدات لتكون الأحماض النووية لازالت محدودة وقاصرة . وبغض النظر عن طرق تخليق أو هدم الأحماض النووية إلا أنها ذات أهمية بيولوجية كبيرة .

فالـ DNA هو المادة الهامة التي تتكون العوامل الوراثية (genes) كما أن مادة التحول transforming substance في خلايا البكتيريا تحتوي أيضاً على DNA . فبالرغم من أن DNA يتكون من وحدات محدودة ومعروفة إلا أنها تكون مرتبة بطرق مختلفة تؤدي إلى تكوين عدة آلاف من الصور المختلفة منه . وهذه الصور المختلفة من DNA لا يمكن تمييزها بالطرق الكيماوية المعروفة حالياً ولكن ما يمكن أن يقال عنها أنها تختلف في نسب البيورينات والبريميدينات المكونة لها . وأكثر من ذلك أهمية أن DNA قد يتحد بالبروتينات المختلفة وهذا يؤدي إلى زيادة قدرته التخصصية . فإذا كانت هذه البروتينات هي المكونات الأساسية للجينات فيمكننا إذن أن نتعرف بطريقة تخمينية على وظيفة ودرجة تخصص هذه الجينات .



كما يمكن التخيل أن تخصص الجينات يعتمد كثيراً على طبيعة سطوحها بطريق مشابه لفعل البروتين الانزيمى . فاذا تصورنا أن الكروموسوم يحتوى على عدة بروتينات غير فعالة فى حد ذاتها ولكنها ذات قدرة على إدمصاص جزيئات DNA بطريقة أو بأخرى بدرجة تضى عليه الصفة التخصصية . إذن فعلى سطح هذا الحمض النووى المدمص يتم التفاعل الذى يتحكم فيه الجين المسئول . وبمجرد حدوث ذلك فى بادىء الأمر (initial trigger) فإنه يتكون بالسيتوبلازم جزيئات مشابهة من البروتين والحمض النووى المدمص عليه وتستمر هذه فى القيام بالتفاعل المعين لفترة من الزمن حتى ولو حدث واختل تركيب هذه الجزيئات على الكروموسوم بداخل النواه .

وقد يبدو هذا الاحتمال أو التخمين ضعيفاً ولكنه أحد الطرق التى يمكن بها تفسير فعل الجينات التخصصى . هذا ويجب أن لا ننسى علينا دور RNA فى تكوين جزيئات البروتين الانزيمى . وأن تكون هذا الـ RNA يكون محكوماً بالـ DNA الحلوى .

هذا وحيث أن الجينات والانزيمات قد تشابه من حيث طريقة فعلها إلا أن هناك بعض الاختلافات بينهما يجب أن نضعها موضع الاعتبار وهى :

١ - الجينات يمكنها أن تتكاثر ( أو تزايد ) تلقائياً self duplicating فى حين أن هذا ليس من صفات الانزيمات .

٢ - أن الجينات تتحكم فى عملية تكوين وليس فى معدل نشاط الانزيمات وهذا التحكم قد يكون غير مباشر . بمعنى أن النشاط الانزيمى لا يتأثر فقط عند غياب البروتين الانزيمى نتيجة لعدم وجود الجين المسئول بل قد يتأثر أيضاً نتيجة لوجود الجين فى حالة متغيرة عن حالته الطبيعية .

## المراجع

- Breusch, F L 1948 The biochemisty of fatty acid catablism Advances in Enzymol 8 . 343.
- Breusch F.L 1952 «Carbohydrate f fat conversions» in J.B. Summer and K Myrback (ed.) The enzymes vol. II. Academic Press, N.Y. 1952.
- Kleinzeller, A. 1948. «Synthesis of lipids» Advances in Enzymol. 8;299.
- Lipmann, F. 1953. «On chemistry and function of Coenzyme A.». Bact. Rev. 17 ; 1,
- Lampen, J.O. 1952. «Metabolism of nucleic acid components in bacteria.» Bact. Rev., 16 : 211.
- Lara, F.J.S. 1952. «On decomposition of pyrimidines by bacteria» J. Bacteriol., 64 ; 271 - 279.
- Racker, E. 1951. «Enzymatic synthesis of desoxypentose phosphate». Nature. 167 . 408.
- Schlenk, F. 1949. «Chemistry and enzymology of nucleic acids.». Advances in Enzymol. 9 ; 455.
- Wang, T.P. and J.O. Lampen. 1952. «Metablolism of purimidines by a soil bacterium». J. Biol. Chem., 194 : 775 - 785.
- Whiteley, H.R. 1952. The fermentation of purines by *Micrococcus aerogenes*. J. Bactoeriol., 63 : 163.



## الباب السادس

### التعرف على البكتيريات وتقسيمها

يشمل هذا الباب ثلاثة فصول ، الأول خاص باستكمال بعض الدراسات الهامة في أغراض التعرف والتقسيم والثاني يشمل وصفا مختصرا للارتب البكتيرية وعائلاتها وأجناسها مبينا عدد الأنواع الخاصة بكل جنس ووصفا مختصرا مصورا للأنواع ذات الأهمية الاقتصادية طبقا لتقسيم Bergey ١٩٧٤ للمملكة الميكروبية .

وقد تضمن الفصل الثالث من هذا الباب دراسة مختصرة للمجموعة من الكائنات التي تعرف بالفيروسات والتي ظلت مدرجة بصنف البكتيريات فترة طويلة إلى أن فصلت عنها عام ١٩٥٧ وأدرجت في مجموعة قائمة بذاتها وحاليا مازال الموضع التسمي لهذه الكائنات غير متعرف عليه وذلك طبقا للطبعة الأخيرة من مرجع Bergey



## الفصل الأول

### التعرف على البكتيريات

#### Characterization of Bacteria

يشترط قبل التعرف على أى كائن بكتيرى يتم عزله حديثا القيام بعدة اختبارات للتأكد من صفاته المختلفة وليسهل التفرقة بينه وبين الكائنات الأخرى التابعة أو غير التابعة لمجموعته التقسيمية والتي قد تكون متشابهة معه فى كثير من الخصائص أو قد تختلف عنه فى بعض آخر منها . بعض هذه الصفات قد نوقشت فيما سبق من أبواب وفصول هذا الكتاب . ومن ضمنها دراسة الصفات المورفولوجية والتركيب الداخلى للمخلايا . والصفات المزرعية المختلفة ، والخصائص الفسيولوجية والبيئة ، ودرجة النشاط الأيضى والبيوكيمائى ، والقدرة على إحداث الأمراض ( للنباتات أو الحيوانات ) الا أن هناك مجموعة من الاختبارات يقصد بها التعرف على التركيب الانتيجنى Antigenic structure لخلايا البكتيريا المعزولة للتأكد من وضعها التقسيمى وللتعرف على الطراز أو السلالات المختلفة بداخل النوع الواحد منها ، وتعرف هذه الاختبارات بالاختبارات السيرولوجية Serological tests ، وكذلك الاتجاه الجزئى والوراثى فى التقسيم وهذه لم تناقش بالقدز الكافى فيما سبق من محتويات هذا الكتاب ، ولذلك فانا نجد أن المجال هنا قد يتسع لمناقشتها بشىء من التفصيل .

وبعد القيام بكل هذه الدراسات وتحديد صفات الكائن المعزول والمجهول فان الباحث يلجأ إلى استعمال جداول او مفاتيح التعرف Identification Keys لمقارنة صفات الكائن المجهول والمعزول حديثا مع صفات الكائنات المدرجة بجداول التعرف هذه . ويحتوى مرجع بيرجى الخاص بتقسيم البكتيريات Bergey's manual of Determinative Bacteriology عدة جداول أو مفاتيح تبدأ بالرتب البكتيرية حتى تصل إلى الأنواع . ومن ضمن هذه الجداول او المفاتيح تلك المعروفة باسم جدول سكيرمان Skerman's Key وعند استعمال هذه الجداول يشترط التعرف أولاً على الرتبة التى ينتمى إليها الكائن

المجهول ثم العائلة ثم الجنس حتى تصل إلى النوع . وقد قامت عدة اعتراضات وانتقادات على استعمال مثل هذه الجداول بالرغم من الافتراض بأنها قد نظمت على أساس العلاقات الطبيعية بين المجاميع البكتيرية المختلفة . فالكثير من علماء البكتريولوجيا يعتقد ان المعلومات الحالية عن البكتيريات لازالت غير كافية بدرجة قد تسمح باتباع الطرق التقسيمية المشابهة لتلك الخاصة بالنباتات الراقية ( نعى جداول التعرف ) .

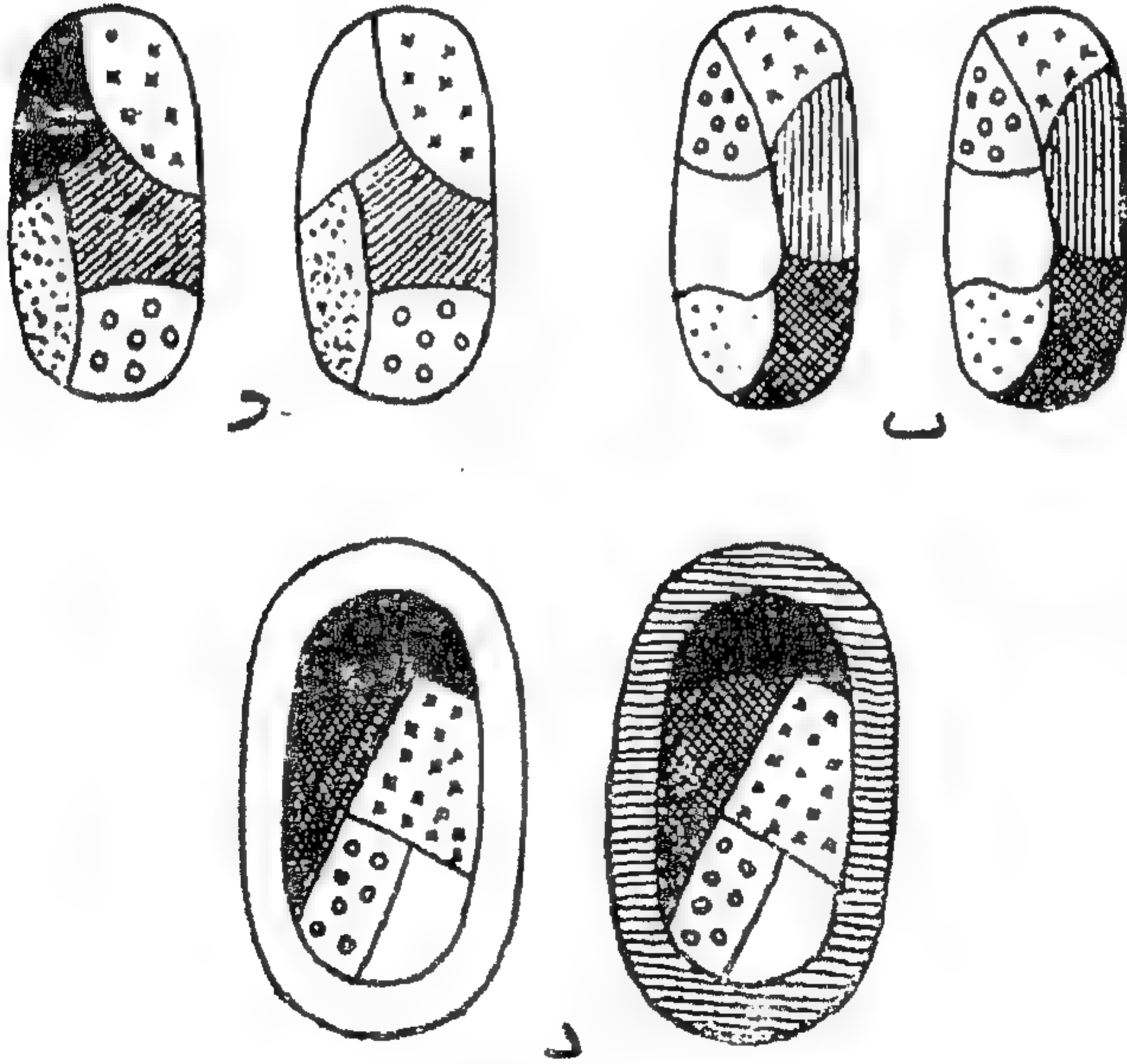
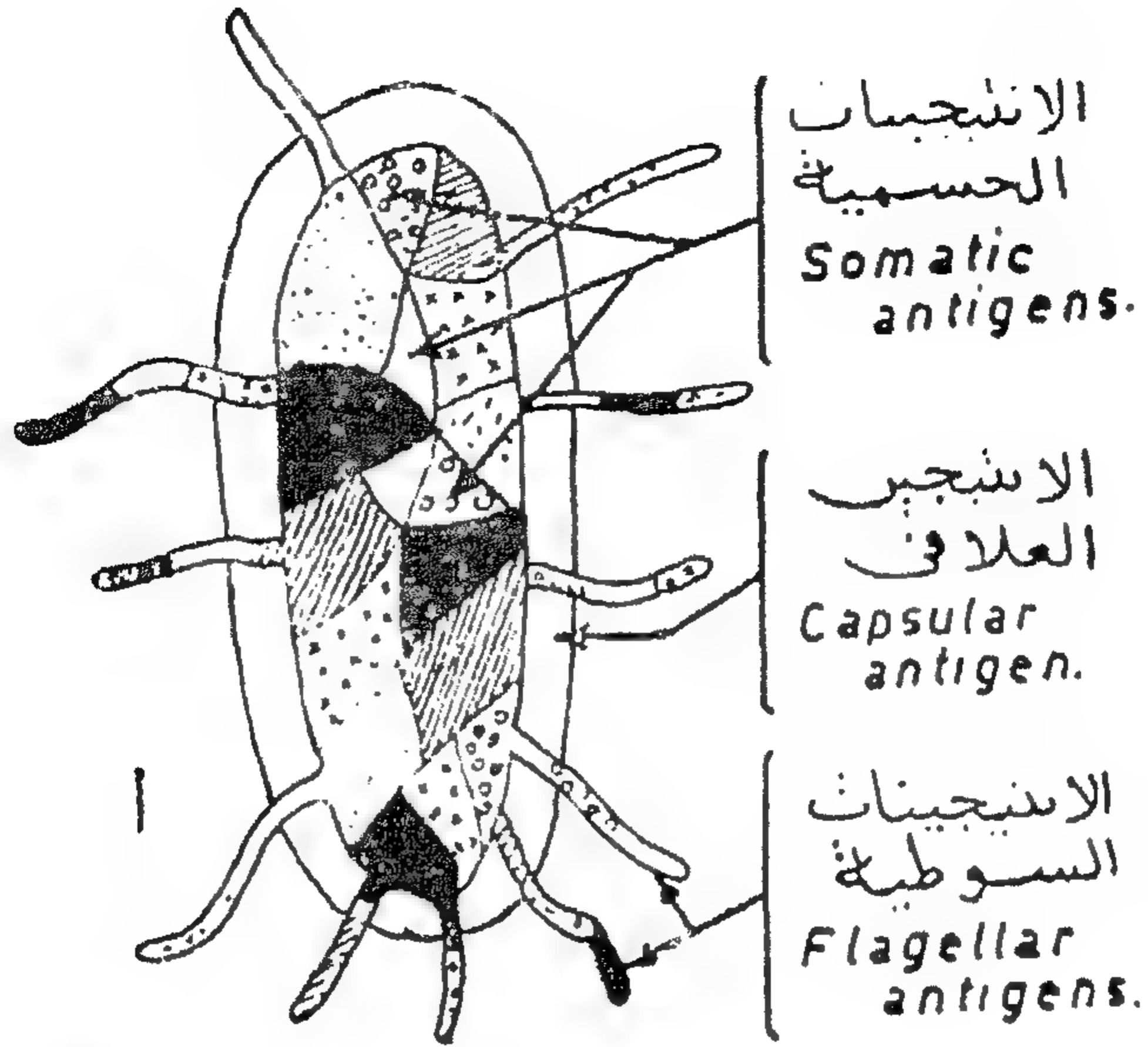
### التركيب الانتيجيني Antigenic structure

ان القدرة التحصينية لأجسام الحيوانات ضد البكتيريات التي تهاجمها قد مكنت من عزل بعض مواد لها أهميتها في أغراض التعرف أو التقدير الكمي لما يحتويه الجسم المصاب من البكتيريات المختلفة .

وهذه المواد تعرف بالأمصال المضادة antisera يكون لها قدرة تحصينية ، مرتفعة فهي تتكون بجسم الحيوان نتيجة لحقنه ببعض المواد الذائبة الممكن استخلاصها من الخلايا أو المواد العالقة المكونة من جزيئات غير ذائبة particulate مثل الخلايا الكاملة أو الجدر الخلوية أو البروتوبلاستات العارية وتتلخص صفات هذه الأمصال المضادة فيما يلي :

- ١ - قدرتها التحصينية المرتفعة . ٢ - حساسيتها الزائدة . ٣ - السهولة النسبية في تحضيرها . ٤ - اتساع مجال المواد التي يمكن أن تتكون نتيجة لوجودها بأجسام الحيوانات .

وتبعاً للنظرية الفردية uniterian theory الخاصة بطبيعة الأجسام المضادة ، فإن الانتيجين الفردي يمكنه أن يتفاعل مع المصل المضاد له بجملة طرق في مختلف الظروف . فمثلاً إذا حصن أرنب بخلايا مضعفة حرارياً heat attenuated من ميكروب التيفود فان دم هذا الحيوان سوف يحتوى على أجسام مضادة خاصة بخلايا هذا الميكروب . وعند خلط كمية من سيرم



شكل ١٢٨ : التركيب الأنتيجيني للخلايا البكتيرية . (أ) خلية تحتوي على عديد من الأنتيجينات - الجسمية ، والغلافية ، والسوطية - وكل بدوره يحتوي على مجموعة من المسواد الأنتيجينية المختلفة . (ب) خليتين ذات محتويات أنتيجينية متطابقة ، (ج) خليتين متقاربتين تمتلك بعض الأنتيجينات المتطابقة . (د) خليتين تشترك في محتوياتهما الأنتيجينية الجسمية وتختلف أنتيجيناتها الغلافية .



دم هذا الحيوان مع معلق خلايا هذه البكتيريا فانه يتكون ما يسمى بالمبندات agglutinins بهذا المخلوط . أما إذا خلط المصل المضاد بمستخلصات خلوية بدلا من الخلايا الكاملة فانه يتكون بالمخلوط رواسب precipitates. ويبدو الأمر مختلفا في حالة استعمال السموم البكتيرية حيث يتكون بالجسم المحتوى عليها مواد تعرف بمضادات السموم anti-toxins فلما كانت هذه المواد قابلة للذوبان في الماء فانه لا يمكن اظهارها عن طريق اختبارات التلبد agglutination أو الترسيب precipitations أو التحلل lysis . ويمكن مشاهدة التفاعلات التي تتم بين الأمصال المضادة والانتيجينات التي تكونها بجملة طرق تبعا لحدوثها في البيئات السائلة و الصلبة .

هذا ويجب أن نعلم أن الخلية البكتيرية تحتوي على عديد من الانتيجينات المختلفة أو أجزاء منها وأن كلا منها يتكون له بجسم العائل أجسام مضادة خاصة به . فالجوامع البكتيرية ذات القرابة الوثيقة closely related ( التي تنتمي إلى جنس أو نوع واحد ) قد تحتوي على انتيجينات متشابهة ولكنها قد تظهر طرزا سيروولوجية مختلفة نظرا لأن هذه الجوامع لا تشترك في محتوياتها من الانتيجينات المميزة للطرز المختلفة ( شكل ١٢٨ ) .

### أنواع التفاعلات السيروولوجية

#### (أ) التفاعلات التي تتم بالسوائل :

تحدث مثل هذه التفاعلات بين الأجسام المضادة وبين كسل من الانتيجينات الذائبة وغير الذائبة .

والانتيجينات الذائبة أو أجسامها المضادة تقدر عادة بالطرق التي تتضمن التقدير الكمي للرواسب التي تتكون وذلك باتباع أى طريقة من طرق تقدير البروتينات . وفي حالة الانتيجينات غير الذائبة particulate مثل الخلايا

الكاملة فإن التفاعل الذى يحدث بينها وبين الأجسام المضادة يمكن تقديره بظهور تجمعات تؤثر على نظام ترسيب الانتيجين غير الذائب .

ويمكن تحويل اختبارات الانتيجينات الذائبة إلى اختبارات تلبدية agglutination وذلك باتباع أحد الطرق التى من شأنها حدوث امتصاص للانتيجين على جزيئات غير ذائبة أخرى مثل الكرات الحمراء erythrocytes لدم الغنم ، وأن هذه الأخيرة يمكنها أن تلتبد agglutinate مع السرم المضاد للانتيجين الذائب . ومثل هذه الطريقة تزيد من حساسية الاختبار ولكنها تفقد الكثير من تخصصها حيث لا يمكن اتباعها فى التقديرات الكمية . وعموماً فإن طرق التلبد هذه لا يجوز الاعتماد عليها فى التقديرات الكمية .

ويجب أيضاً أن نشير إلى تفاعل آخر يمكن اجراؤه مع السوائل وهو إجراء صبغ الأجسام المضادة بصبغات فلورسنتية - وفى هذا الاختبار يضاف مركب فلورسنتى ( فلوروسين ايزوسيانات Fluoresein isocyanate ) إلى الجاما جلوبيولين بدرجة لا تؤثر على نشاطه . وعند التصاق الأجسام المضادة بالانتيجين يصبغ الأخير بطريقة تسهل مشاهدته وفحصه مجهرياً بالمجهر ذو الاضاءة فوق البنفسجية . وهذه الطريقة مفيدة فى حالة الانتيجينات غير الذائبة particulate . وكون هذه المادة الفلورسنتية تخصصية فى صبغ الجدار الخلوية لذلك فهى طريقة مفيدة جداً فى تصنيف البكتيريا باستعمال أمصال فلورسنتية Fluorescent reference sera سبق التعرف عليها . وعند استعمال خلايا كبيرة ( أكبر حجماً من البكتيريا الحقيقية ) فإن هذه الطريقة يمكن اتباعها لتحديد انتيجينات معينة داخل هذه الخلايا .

#### (ب) تفاعلات البعثات الصلبة :

تستعمل هذه الاختبارات فقط فى دراسة الانتيجينات الذائبة حيث يمكن لها وكذلك للأجسام المضادة أن تنتشر فى البعثات الصلبة مثل جيل الآجسار

agar gel . وتفاعل الانتيجين مع الأجسام المضادة يمكن ملاحظته كمناطق معتمة opaque نتيجة للتسبب الذي يحدث داخل البيئة الصلبة . والتقدير الكمية لمثل هذا الاختبار تتم على أساس درجة كثافة المناطق المعتمة التي تتكون . وتوجد أجهزة خاصة يمكنها إجراء هذه القياسات . وتتميز هذه الطريقة عن طرق البيئات السائلة بما يلي : ١ - في حالة استعمال خليط من الانتيجينات المختلفة . يمكن مشاهدة مجموعة من المناطق الترسيبية كل يوضح وجود انتجين معين . ٢ - يمكن بهذه الطريقة التأكد من درجة تطابق الانتيجينات التي يمكن تفاعلها تبادليا coiss-react ٣ - يمكن أخذ فكرة واضحة عن الوزن الجزيئي للانتيجينات المستعملة على أساس درجة انتشارها بالبيئة ، وهذه يمكن معرفتها بتحديد مكان حدوث مناطق الترسيب وكثافتها . ٤ - لا يشترط توفر معلومات معينة عن تركيز الأجسام المضادة أو المصل المضاد antiserum وكذلك لا يهم معرفة تركيز الانتيجينات المستعملة الأمر الذي تتطلبه اختبارات البيئة السائلة . وليس هنا المجال لسرد تفاصيل إجراء هذه الاختبارات .

#### الدراسات التي تتطلب طرقاً سيرولوجية :

يمكن التعرف على أى مادة بالطرق السيرولوجية طالما لها قدرة على تنبيه جدر الأوعية الدموية للعائل الحيوانى لتكوين أجسام مضادة . فبعض المواد قد تكون انتيجينية في بعض الحيوانات (بمعنى أنها تنبه تكون الأجسام المضادة بها) في حين أنها تكون غير ذلك في أجسام بعض الحيوانات الأخرى . هذا ويجب أن نعلم أن اتباع الطرق السيرولوجية لأغراض التعرف على مدى القرابة بين السلالات البكتيرية تعتمد على أسس غير تلك التي تجرى لأغراض أخرى كالتى تتبع فيها طرقاً خاصة مثل استعمال القوة المركزية الطاردة عالية السرعة ultracentrifugation أو electrophoresis أو chromatography وأن كلا من الطرق الأخيرة يشترط إجراؤها كدراسات تكميلية للطرق السيرولوجية السالفة الذكر . وفيما يلي بعض المشاكل البكتيريولوجية التي يمكن حلها عن طريق الدراسات السيرولوجية .

( أ ) التعرف على مدى تجانس التحضيرات البروتينية أو عديدات التسكر التي يمكن عزلها من النظم البيولوجية المختلفة .

( ب ) التعرف على كيفية تكون بعض البروتينات المعينة .

( ح ) إذا فرض واحتوى تحضير ما على أكثر من نظام انزيمي واحد . فيمكن عن طريق الدراسات السيرىولوجية التعرف على ما إذا كانت هذه النظم مرتبطة بنوع واحد من البروتين أو بأنواع مختلفة من البروتينات .

( د ) في حالة المقارنة بين سلالتين بكتيريتين فإنه يمكن بالطرق السيرىولوجية التعرف على ما إذا كانت محتوياتها الانتيجينية متطابقة أم لا .

( هـ ) إذا فرض وعزل سلالات بكتيرية مختلفة من خلايا نظامين انزيمين لها نفس النشاط الانزيمى ، فإنه يمكن سيرىولوجيا التعرف على ما إذا كان نشاطهما مرتبطا بمحتوياتهما الانتيجينية .

( و ) إذا فرض وتكونت سلالة تطفيرية تفتقر إلى نظام انزيمى معين من سلالة بكتيرية محتوية على هذا النظام الانزيمى . فإن اتباع الطرق السيرىولوجية قد يبين هل يرجع افتقار السلالة التطفيرية إلى النظام الانزيمى الناقص إلى تكوين نوع مخالف من البروتينات غير فعال من الناحية الانزيمية بالرغم من قدرته على التفاعل مع الخلايا تبادليا من الناحية السيرىولوجية أم أن ذلك يرجع إلى أن السلالة التطفيرية لا تكون بروتينات شبيهة ببروتين ذلك الانزيم .

وغنى عن الذكر ما تؤديه الدراسات السيرىولوجية من فوائد في أغراض تقسيم وتصنيف البكتيريا ، ويجب أن نعلم أن هذا النوع من الدراسات السيرىولوجية يعتبر الأساس الذى بنيت عليه الدراسات السيرىولوجية الأخرى .

وسوف نشير إلى الاستعمالات الحديثة للطرق السيرىولوجية والى ثبت أهميتها للدارسى علم البكتيريا المهتمين بالبراسات الوراثية أو بطششق تخليق

المكونات الحلوية الجديدة أو في دراسة مدى انتشار وتركيز المحتويات  
الانتيجينية بالخلايا البكتيرية .

#### تحضير الأمصال المضادة : Preparation of Antisera

حيث أن اتباع الطرق السيرولوجية تكون معتمدة على الأمصال المضادة  
المعلومة القوة المحضرة بطرق سليمة ، لذلك يلزم أن نبين أولا المشاكل التي  
تعرض المشتغلين بتحضيرها واختبارها . وفيما يلي نسوق بعض الأسس  
البسيطة التي يمكن اتباعها في هذا الصدد .

##### (١) إختيار الحيوان المناسب :

يستعمل عادة الدجاج أو الأرانب في هذا الغرض نظرا لسهولة تداولها  
وتجاوبها السريع لعديد من الانتيجينات ، وإلى سهولة الحصول على السيرم  
من دمها . وكلا هذين النوعين من الطيور أو الحيوانات يمكن الحصول منه على  
كمية من الدم تعطى كمية من المصل (السيرم) تتراوح بين ٥٠ - ٦٠ مل عندما  
تذبح وتستنزف ، أو يمكن الحصول على كميات من الدم بشكل عينات ،  
اختبارية متتابعة من الحيوان وهو مازال حيا تصل في مجموعها إلى ٥٠ مل  
ينتج عنها كمية من المصل تقدر بـ ٢٥ مل .

وفي حالة الرغبة في الحصول على كميات صغيرة من المصل أو في حالة  
الرغبة في تحصين عدد كبير من الحيوانات بعديد من التحضيرات الانتيجينية  
المختلفة فإنه يمكن استعمال حيوانات أقل حجما كالفئران الصغيرة أو الكبيرة  
أو أرانب التجارب المعروفة باسم Guinea pigs :

وعند إختيار الحيوان المناسب يجب أن نضع نصب أعيننا أن التحضير قد  
يكون ضعيفا من الوجهة الانتيجينية في نوع يتبه تكوين الأجسام المضادة في  
نوع من الحيوانات ولكنه قد يكون قويا من الناحية الانتيجينية داخل جسم



نوع آخر من الحيوانات . ومن ذلك يبدو أنه من المستحسن تحصين أكثر من نوع حيوانى واحد فى نفس الوقت بالمادة الانتيجينية المعزولة .

### (ب) جمع وتخزين وتجزئء الأمصال :

#### Collection, Storage and Fractionation of Sera

يمنع الحيوان عن التغذية لفترة ١٨ ساعة قبل ذبحه . يجمع الدم فى أنبوبة طرد مركزى سعة ٤٠ مل ويترك بها ليتخثر . توضع الأنبوبة بالحضان على درجة ٣٧°م لمدة ساعة واحدة . تفصل التخثرات عن حواف الأنبوبة بواسطة ابرة معقمة وباردة ثم توضع الأنبوبة كما هى فى الثلاجة لفترة ١٢ ساعة . يجمع السيرم ويعامل بالقوة المركزية الطاردة فى أنبوبة أخرى نظيفة لتخليصه مما يكون عالقا به من أجزاء التخثر (الجلطة) . ثم يعاد معاملته بالقوة المركزية الطاردة لتخليصه من خلايا الدم الفردية ويتبع لذلك قوة مركزية طاردة . قدرها ٨×١٠<sup>٢</sup> جاذبية أرضية لمدة خمسة عشر دقيقة . فى معظم الأحوال لاتراعى الشروط التعقيمىة عند تحضير السيرم . حيث أنه سوف يعقم فيما بعد بالترشيح بمرشح زيتز . والسيرم المعقم يمكن تخزينه لفترات طويلة جدا على درجة حرارة ٤°م . وأحيانا يضاف إليه بعض المواد الحافظة مثل مركب الميرثيولات merthiolate بتركيز ١/١٠٠٠٠٠ ، الا أن هذه المادة الحافظة يصعب ازلتها من السيرم الا عن طريق التخفيف لذلك يجب مراعاة الحرص عند اضافتها إلى السيرم الذى يستعمل فى تحصين الحيوانات . ويمكن أيضا الاحتفاظ بالأمصال (السيرم) لفترة طويلة تحت ظروف الحرارة المنخفضة (٢-٥°م) .

ويفضل اجراء التجزؤ للأمصال المتحصل عليها لبعض الدراسات الخاصة فمثلا إذا أريد تركيز مصل ضعيف أو تنقية الجاما جلوبيولين من المكونات الأخرى تتبع طرقا عدة لإجراء عمليات التجزئة Fractionation . وأبسط هذه الطرق هى تلك التى أوجدها Kekwick (١٩٤٠) والتى تستعمل فيها سلفات الصوديوم (ص. ٢ ك ب ا) على درجة حرارة الغرفة أو الامونيوم (نيد ٤) ك ب ا .

كما أن طريقة التجزؤ المستعمل فيها كحول الايثايل والتي اقترحها Deutsch (١٩٥٢) ينتج عنها ايضا تحضيرات رائقة . وفي حالة الرغبة في زيادة تركيز السيرم فقط فان القيام باتباع أحد هذه الطرق يتطلب مراعاة ضبط كل من درجة الحرارة ، وقيمة pH ، وقوة الايونات المعدنية بالتحضير . واتباع هذه الطرق يسمح بالحصول على ٧٠٪ من الأجسام المضادة النشطة . وما يمكن التحصيل عليه من جاما جلوبولين يوضع بكميس الفرز الانتشاري dialysis bag ويعلق في محلول من كلوريد الصوديوم يتراوح تركيزه بين ٥-٩٪ لمدة ١٢ ساعة ثم يقاس الحجم وتعبأ أحجام مناسبة في أنابيب صغيرة وتحفظ بالطريقة اللايوفيلازية .

(ح) تحضير الانتيجين لأغراض الحقن : Preparation of Antigen for injection

تختلف طرق تحضير الانتيجينات تبعاً لنوعها (ذائبة soluble ، أو غير ذائبة parrrticate ) . وهناك عدة طرق الا أن عددا قليلا منها قد ثبت أهميته .

#### ١ - الانتيجينات غير الذائبة : Pariculate antigens

يمكن الحصول على انتيجينات الجدر الخلوية باستعمال الخلايا الكاملة المغسولة عدة مرات في محلول منظم Buffered من ملح الطعام ثم يعاد تعليق الخلايا في ١ مل ص كل ، لتعطى كثافة ضوئية Optical density مساوية للوحدة باستعمال موجة ضوئية ذات طول ٢٥٠ ميللي ميكرون .

ويجب مراعاة الاختياطات التالية عند تحضير معلق الخلايا لاستعمالها في الحقن . (ا) تفضل الخلايا التي تنمى في بيئات تركييبية سائلة حيث أن المستخلصات الطبيعية مثل مستخلص اللحم والآجار قد تحتوى على بعض المواد الانتيجينية . (ب) يفضل استعمال الخلايا وهي في طورها اللوغاريتمى أو بعد بدء الطور الثابت من النمو حسب الرغبة ، الا أنه لانتاج سيرم مضاد للجدر الخلوية - anti

cell wall serum فان الخلايا المستعملة في أوائل الطور الثابت أو عقب انتهاء الطور اللوغاريتمي مباشرة تعطى افضل النتائج : وفي بعض الحالات الخاصة كما في حالة خلايا *Pneumococci* يلزم عمل الاحتياط اللازم فيما يختص بعدد الخلايا وقيمة pH المعلق حتى لا تتحلل الخلايا ذاتيا .

وتحضيرات الخلايا المتحصل عليها بعد النمو الكافي وبعد إجراء غسيلها لازالة ما يعلق بها من البيئة قد تعامل بالحرارة أو بالفورمالين لقتلها . ومثل هذه التحضيرات يمكن الاحتفاظ بها بالثلاجة للفترة اللازمة لإجراء الحقن .

وبعض التحضيرات من الخلايا البكتيرية مثل تلك الخاصة بالبكتيريا *Pneumococci* تكون صالحة لأغراض الحقن طالما أظهرت الخلايا تفاعلا موجبا لصبغة جرام . لذلك فيفضل دائما فحص الخلايا مجهريا واختبار قدرتها الاصبغية قبل استعمالها في أغراض الحقن .

## ٢ — الانتيجينات الذائبة : Soluble antigens

تعتبر الطرق التي تتضمن ادمصاص الانتيجينات الذائبة على سطوح مواد أخرى غير الذائبة مثل ايدروكسيد الألمنيوم أو فوسفات الألمنيوم أو في مستحلب ثابت من الماء والزيت ، من أفضل الطرق المتبعة في هذا الصدد . والخطوات التالية تبين طريقة تجهيز انتيجين عن طريق الترسيب بمركبات

الألمنيوم alum-precipitated antigen

١ — يضاف إلى المحلول البروتيني (ذو التركيز ٥٪) حجم من محلول ١٠٪ من المركب لو<sub>٢</sub> (كبا<sub>٤</sub>)<sub>٣</sub> ، بوزن كبا<sub>٤</sub> — ٢٤ يدا<sub>٢</sub> ليعطى وزنا كليا مساويا ٢,٥ × وزن البروتين .

٢ — تضبط قيمة pH إلى ٧ بإضافة محلول ١,١ أساسي من صرايد . ليتكون راسب نتيجة للاتحاد مع الانتيجين . يختبر الراشح للتأكد من ارتباط كل من البروتين مع مركب الألمنيوم المعقد . فإذا وجد أنه لم يترسب كلية .

يضاف مزيد من مركب الألمنيوم كما سبق . ويستعمل المعلق الناتج في أغراض الحقن .

#### (د) طرق الحقن ومواعيدها و كمية الانتيجينات المحقونة :

##### Injection Routes, Schedules and Dosages

هناك عدة طرق لاجراء حقن الحيوانات بالتحضيرات الانتيجينية المختلفة ، والطرق التي سوف نذكرها هنا هي تلك التي ينصح بها كثير من المشتغلين بهذا الميدان وأخصهم كون Cohn (١٩٥٢) .

والانتيجينات المختلفة سواء كانت تحضيرات بروتينية مرسبة بطريق مركبات الألمنيوم أو على صورة محلول ، أو معلقات فيروسيّة ، يمكن حقنها بجسم الحيوان بجملة طرق . في الأوردة intravenously أو في الغشاء البيريتوني intraperitoneally أو تحت الجلد subcutaneously والتحضيرات التي تكون في صورة مستحلب من الزيت والمياه تحقن فقط في الغشاء البيريتوني أو تحت الجلد . ومن المعتاد تغير طرق الحقن حسب ما إذا كان التحضير في محلول أو في معلق . ويقل تسمم الحيوان عادة إذا مابدأت عمليات الحقن ، باتباع طريقة تحت الجلد في الأيام الأولى ثم يمكن بعد ذلك اتباع الطرق الأخرى من الحقن .

ويشترط إجراء الحقن في مواعيد منتظمة للحصول على نتائج مرضية ، ففي حالة التحضيرات المرسبة باستعمال مركبات الألمنيوم ، والمحاليل ، أو المعلقات ، يشترط إجراء الحقن يوميا لفترة أربعة أيام متتالية . ثم يترك الأرنب بدون حقن لفترة الثلاثة أيام الأخرى من الأسبوع ، وفي حالة المستحلبات يشترط حقنها مرة كل أسبوع . وعموما يستمر حقن الحيوان لمدة أربعة أسابيع متتالية ، يختبر بعدها ، فاما أن يؤخذ دم الحيوان تدريجيا خلال أسبوع واحد ، وفي هذه الحالة قد يحتفظ بالحيوان لحقنه مرة أخرى بنفس الانتيجين ، أو أن يذبح ويؤخذ دمه دفعة واحدة .

وفي حالة الحيوانات التي لاتستجيب جيدا في فترة الأربعة اسابيع .  
فيجب ايقاف عمليات التحصين حيث أن ذلك سيؤدي إلى الحصول على  
سرم ضعيف ذا فاعلية تخصصية ضعيفة less specific

وكميات الانتيجين التي تحقن بالأرنب تختلف أيضا ، وهنا يجب أن  
نوازن بين عدم الاسراف في استعمال الانتيجينيات التي قد تكون نادرة .  
وبين حقن الكمية الكافية لتكوين الأجسام المضادة بجسم الحيوان . فالحصول  
على الأمصال المضادة من البكتيريا يحقن عادة معلق من الخلايا بتركيز ١٠<sup>٩</sup>  
خلية لكل مليلتر واحد . ويتدرج في حقن كميات متزايدة من الانتيجين . ففي  
اليوم الأول تحقن كمية ٠.٢ - ٠.٣ مل من المعلق وتزداد بالتدريج حتى  
تصل إلى ٢ - ٣ مل كل مرة في الأسبوع الأخير من الحقن .

وفي حالة الفيروسات البكتيرية والتي يتحصل عليها عن طريق القوة  
المركزية الطاردة المنخفضة ثم المرتفعة السرعة (٣×١٠<sup>٣</sup> جاذبية أرضية لمدة  
١٥ دقيقة ثم ٢×١٠<sup>٤</sup> جاذبية أرضية لمدة ساعة) يمكن الحصول على سIRM  
جيد لها ، يحقن معلق منها تدريجيا لمدة أربعة اسابيع بحيث يعطى في كل مرة  
كمية تحتوي ٤×١٠<sup>١١</sup> جزي فيروسي . وقد تم الحصول على نتائج لابأس  
بها عند حقن ٠.١ مل من معلق أى من سلالات البكتيريوفاج ت ٢ ، ت ٥  
تحتوى على ١٠<sup>١٢</sup> جزي فيروسي ١ مل في قاعدة أحد الأقدام الحلقية للأرنب  
وكمية ٠.٢ مل بالوريد يوميا لمدة أربعة أسابيع .

وتحضيرات الفيروسات البكتيرية منها بلغت درجة نقاوتها تحتوى على بعض  
المواد الغريبة التي يكون بعضها ساما للحيوان . من ذلك يلزم بدء برنامج الحقن  
بعد إجراء خمس حقن تحت الجلد للتأكد من خلوها من المواد السامة ثم تتبع  
أحد الطرق السالفة الذكر .

والانتيجينات البروتينية المرسبة بواسطة مركبات الألمنيوم عندما تحقن



بأجسام الأرانب أو الدجاج بكمية ٢٠ — ٣٠ ملليجرام للحيوان الواحد خلال الفترة الكلية للحقن ، ينتج عنها تكون كمية لا بأس بها من المصل المضاد . وفي حالة خلط البروتينات فإنه يشترط زيادة الكمية الكلية من الانتيجين المحقون بالحيوان ( ١٠٠ ملليجرام ) لغرض الحصول على تنبيه أنسجة الحيوان بالبروتين الأقل تركيزا في المخلوط . وللحصول على مصل مضاد للمكونات ذات التركيز المنخفض بالمخاليط ، يشترط أيضا حقن كمية كبيرة من الانتيجين خلال فترة أقصر ( ٣ أسابيع بدلا من أربعة ) . وللحصول على مصل مضاد للمكونات الرئيسية ( ذات التركيز المرتفع بالمخاليط ) يشترط استعمال كمية صغيرة من الانتيجين المخلوط ( عدة ملليجرامات ) خلال فترة أطول ( ٦-٨ أسابيع ) .

#### الاستنزاف الاختباري أو النهائي : Test bleeding and terminal bleeding.

في حالة الدجاج تفرد الأجنحة على منضدة ويوضع على كل منها ثقل مناسب من أكياس الرمل . ويمكن أخذ عينات من الدم من أحد الأوردة المتواجدة في أسفل أحد الأجنحة . وفي حالة الأرانب يمكن أخذ عينات دم للاختبار من أحد أوردة الأذن وعند القيام باستنزاف دم الحيوان أو الطائر نهائيا فإن ذلك يحدث بعمل ثقب في قلب الحيوان ويتعرف على ذلك بحقن إبرة طويلة في المنطقة التي يحس منها الباحث نبض قوى . وعادة توصل الإبرة الطويلة بانبوبة من مادة البولي اثيلين ويجمع الدم في أنابيب طرد مركزي نظيفة . ثم تتبع الطرق السالف ذكرها في تحضير الأمصال المضادة .

ومن المعروف أن المصل الجيد ، ما كانت محتوياته من النيتروجين تصل إلى عدة مئات من الميكروجرامات لكل ميليلتر واحد منه . إلا أن الأمصال الأضعف من ذلك ، يمكن استعمالها في التفاعلات التي تجري بالبيئات الصلبة .

والأمصال المتكونة ضد الانتيجينات السوطية antiflagellar sera قد

تظهر نهاية لنشاطها end point على تخفيفات مرتفعة يصل إلى ١ : ١٠°. هذا والأجسام المضادة التي تحدث تلبدا في الانتيجينات الجسمية ذات نقطة نهائية على تخفيفات عالية تتراوح بين (١ : ١٠<sup>٢</sup> إلى ١ : ١٠<sup>٤</sup>). والأمصال العادية يشترط أن تكون ذات قوة ملبدة agglutinating titer لتركيزات مرتفعة من خلايا البكتيريا تقدر ١ : ١٠. لذلك يلزم أن يكون المصل المستعمل على درجة عالية من التركيز .

من ذلك يلاحظ أن للاستنزاف الاختباري أهمية كبيرة أثناء فترة الحتن للتأكد من تركيز المصل المتكون. هذا وتلازم القوة التلبدية agglutinating titer مع تركيز الأجسام المضادة يبدو أنه يعتمد كثيرا على كل من الانتيجين والمصل المضاد .

### أولا — الطرق الوصفية لاستعمال الأمصال المضادة :

Qualitative methods for using Antisea

#### ١ — الاختبارات التلبدية : Agglutination tests

من السهل جدا إجراء الاختبارات التلبدية وتفسير نتائجها . لذلك فهي الطريقة السيرولوجية المفضلة لاختبار وتحضير الانتيجين الحلوى المناسب . وفي حالة احتواء الخلايا على تركيب انتيجيني عام فانه يمكن التفرقة بين الأنواع البكتيرية باتباع طريقة امتصاص الملبدات agglutinin-absorption technique والتي سيلي وصفها فيما بعد .

ومن ضمن أمراض الانسان التي تستعمل فيها الاختبارات التلبدية كوسيلة من الوسائل التشخيصية مايلي : الحمى التيفودية ، والأمراض الناتجة عن أفراد الجنس *Salmonella* . والأمراض الناتجة عن أنواع الجنس *Brucella* والحمى التيفوسية . ولا يقتصر استعمال الاختبارات التلبدية على تشخيص الأمراض المعدية بالمعمل نتيجة لحدوث التلبد بانتيجين معلوم مع

مصل دم الانسان المصاب ، بل يمكن أيضا عن طريقها التعرف على الأنواع المجهولة من البكتيريات أو الريكيتزيات أو الفيروسات بمعرفة قدرة الأمصال المضادة المعلومة في تلييد خلايا أو جزيئات المزارع المجهولة . والاختبار المعروف باسم اختبار فيدال *Widal test* قصده به أول الأمر التعرف على الإصابة بالحمى التيفودية حيث يختبر تلبد خلايا مزرعة ميكروب التيفود بسيرم من دم الانسان المصاب ولا يقتصر استعمال هذا الاختبار على هذا المرض فقط بل يستعمل في التعرف على الاصابات البكتيرية بكائنات أخرى غير ميكروب التيفود *Salmonella typhosa*

وهناك اختبار تلبدى آخر يعرف باسم تفاعل فيل — فيللكس *Weil-Felix reaction* ويعتمد هذا الاختبار على الحقيقة القائلة بأن عديدا من الريكيتزيات يمتلك انتيجينا عاما ومشاها لذلك المتواجد بخلايا أنواع الجنس البكتيرى *Proteus* من ذلك فان سيرم دم الحيوانات المصابة بالريكيتزيات يمكنها أن تلبد معلق الخلايا التابعة لجنس *Proteus*

وتقسم الاختبارات التلبدية إلى قسمين :

١ — اختبارات ماكروسكوبية *Macroscopic* عندما يجرى الاختبار في أنابيب صغيرة تعرف بأنابيب التلبد تفحص بالعين المجردة ، ٢ — اختبارات ميكروسكوبية *Microscopic* عندما يخلط الانتيجين مع المصل المضاد على شريحة زجاجية ويتم الفحص مجهريا .

(١) الاختبارات الماكروسكوبية :

أن اتباع هذه الطريقة لا يؤدى فقط إلى التيقن من حدوث التلبد بل يؤدى أيضا لمعرفة التركيز التقريبي لكل من الانتيجين والمصل المضاد الذى يحدث عليه الترسيب حيث أن المصل المضاد يخفف تسلسليا ويخلط بكل تخفيف كمية موحدة من معلق الخلايا البكتيرية . ويجرى تخفيف السيرم

باستعمال محلول ملح فسيولوجى فى عدة أنابيب صغيرة . ويراعى ترك أنبوبة بدون مصلى يوضع بها كمية مماثلة من محلول الملح الفسيولوجى للمقارنة . تحضن الأنابيب وتفحص بالعين المجردة لحدوث التلبد . يراعى عدم حدوث تلبد للخلايا البكتيرية فى أنابيب المقارنة . أما إذا حدث ذلك فإن النتائج المتحصل عليها فيما يخص حدوث التلبد من عدمه لا يمكن الاعتماد عليها . وحدث التلبد بالأنابيب على التخفيفات المرتفعة من المصل تعنى ارتفاع تركيز الأجسام المضادة high titer بالمصل المضاد المحضر .

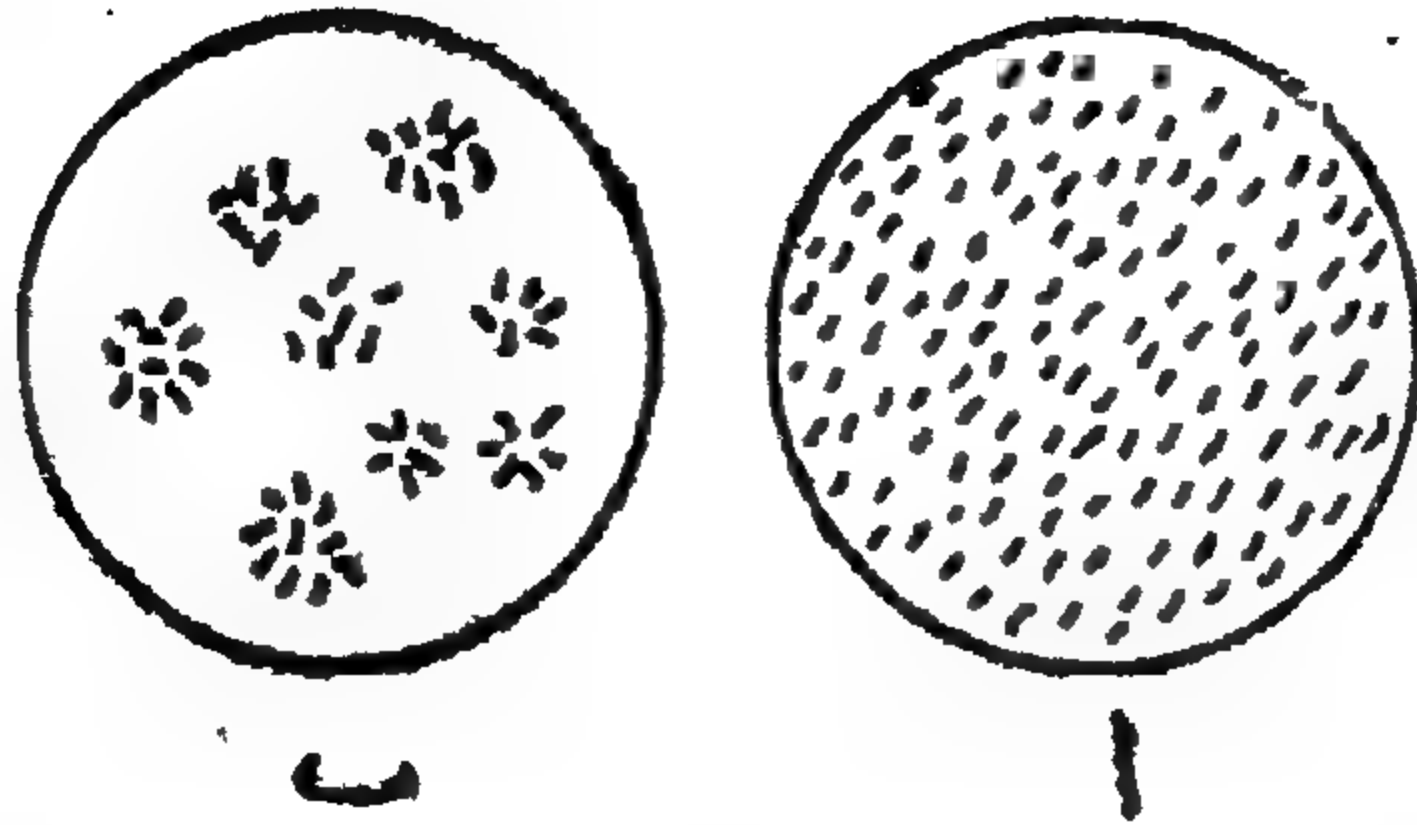
#### (ب) الطريقة الميكروسكوبية :

يجرى تخفيف المصل المضاد المحضر بمحلول ملح فسيولوجى للحصول على تركيزات متسلسلة : ثم تؤخذ نقطة (بابرة تلقيح) من كل تخفيف وتوضع فى وسط غطاء شريحة زجاجى منفصل ثم يضاف لكل منها نقطة من معلق الخلايا البكتيرية الحديثة السن وللمقارنة توضع نقطة مماثلة من محلول الملح الفسيولوجى فقط على غطاء شريحة زجاجى وتخلط أيضا بنقطة من الانتيجين المستعمل . ثم يقلب غطاء الشريحة فوق تجويف فى الشريحة المحفوفة ويثبت بها بقليل من الفازلين لمنع التبخر . وتوضع الشرائح بالحضان (٣٧°م) لمدة ساعة واحدة ثم تفحص بالعدسة الشيئية الكبرى لمشاهدة تجمع الخلايا البكتيرية كما هو موضح (بشكل ١٢٩) .

فى حالة الأمصال المضادة المتجانسة فإن تخفيف  $\frac{1}{4}$  يمكنه أن يحدث تلبدا للخلايا خلال ١٥ دقيقة أو أقل على درجة حرارة الغرفة . وتستعمل هذه الطريقة للتعرف السريع على المزارع البكتيرية المجهولة باستعمال أمصال مضادة معروفة .

#### (ج) اختبارات امتصاص الملبدات : Agglutinin absorption tests

أن الكائنات المتقاربة مثل الريكتيزيات المختلفة أو أنواع الجنس *Salmonella*



شكل ١٢٩ : النتائج المتحصل عليها من طريقة التلبد الميكروسكوبية .  
(ا) اختبار سالب يلاحظ انتشار الخلايا بانتظام في الحقل الميكروسكوبي .  
(ب) اختبار موجب ، يلاحظ تجمع الخلايا البكتيرية ( حدوث تلبد ) .

أو أنواع الجنس *Shigella* تحتوي على انتيجينات متشابهة وعامة بدرجة أن الأنواع المختلفة للجنس أو السلالات التابعة للنوع الواحد تحدث تلبدات عند تفاعلها مع الامصال المضادة الخاصة بالأنواع أو السلالات الأخرى في المجموعة . ولايضاح ذلك نفترض أن أجساما مضادة تكونت ضد الكائن البكتيري (س) ومن التحليل نجد أن الانتيجينات التي تحتويها خلايا (س) تتكون من التجزئات ا ، ب ، ح ، د . وأن المصل المضاد الذي يتكون سوف يحتوي على أجسام مضادة هي عبارة عن آ ، ب ، ح ، د ، ويمكنها أن تلبد خلايا (س) على تركيزات مرتفعة . فإذا كان لدينا كائن (ع) يحتوي على الانتيجينات ا ، و ، ز ، ح يكون الانتيجين ا مشتركا بين الكائنين فان خلايا الكائن البكتيري (ع) يمكن تليدها باستعمال المصل المضاد المحضر ضد البكتيريا (س) . وإذا لم نتفهم طريقة التلبد المتبادل بين الأنواع البكتيرية فان النتائج الممكنة المتحصل عليها من اختبارات التلبد الروتينية البسيطة تكون مضللة . ولاعطاء الدليل على حدوث التلبد المتبادل فانه يتبع طريقة اختبار امتصاص الملبدات ، والنتائج المتحصل عليها حينئذ تكون ذات أهمية في أغراض التعرف ، وفي حالة هذه الاختبارات فانه يمكن التأكد من النظام الانتيجيني للكائنات المتقاربة مثل أنواع جنس *Salmonella*



وتجرى هذه الاختبارات باستعمال معلق مركز من خلايا البكتيريا المراد دراسة نظامها الانتيجيني . تخلط هذه المعلقات المركزة بما يقرب من ١٠ أجزاء من السيرم المخفف بمحلول ملح فسيولوجي بدرجة ١ : ١٠ في أنبوبة طرد مركزي ثم توضع بالحضان (٣٧°م) لمدة ساعتين مع الرج كل نصف ساعة ، ثم تترك بالثلاجة لفترة ١٢ ساعة أخرى . بعد ذلك تفصل الخلايا عن السيرم بالقوة المركزية الطاردة ويفصل الراشح وتختبر قدرته التلبدية بخلاط كمية منه بكمية انتيجين متجانس ومعروف . ولأغراض المقارنة تخلط بعض من السيرم غير الممتص not absorbed (سيرم عادي) ببعض الانتيجين المتجانس المتعرف عليه ثم تخلط كمية أخرى من الراشح المتبقى بكمية من انتيجين غير متجانس . فعند حدوث التلبد والتالى عند حدوث نقص في تركيز الأجسام المضادة يدل على وجود التشابه في التركيب الانتيجيني .

## ٢ - اختبارات الترسيب :

سبق أن بينا أن اختبارات الترسيب يستعمل فيها انتيجينات ذائبة مثل مستخلصات الخلايا البكتيرية . وهذه تخلط بالأجسام المضادة الخاصة بها ، ففي حالة الاختبارات الإيجابية تتكون رواسب مميزة وهذه الطريقة يمكن التعرف على المستخلصات البكتيرية أو بقع الدم باستعمال الأمصال المضادة المعروفة . وتستعمل هذه الطريقة أيضا في أغراض التعرف على العوامل المعدية في بعض الأمراض مثل الجمرة الحبيثة عندما تخلط انتيجين معلوم مع مصل من دم الحيوان المصاب ويجرى اختبار الترسيب precipitin test . تخلط الانتيجين مع السيرم المضاد في أنبوبة اختبار أو عن طريق وضع المادتين بحرص في أنبوبة ضيقة ومشاهدة تكون حلقة ترسيبية في مكان اتصاليهما . وكما هو الحال في الاختبارات السيرولوجية المختلفة يجب تواجد مادة متأينة electrolyte مثل (ص كل) لكي يتم التفاعل .

أن اختبارات الترسيب هذه ليست مقصورة على الأغراض التشخيصية

للعدوى البكتيرية للإنسان والحيوانات الأخرى حيث أن لما استعمالات أخرى منها

١ - التعرف على مرض الزهري syphilis بالمعمل عندما يتواجد  
النتيجين غير متخصص ولكنه يتبع جنس *Spirochaeta* . ٢ - التعرف على  
طرز البكتيريا Streptococci المحالة للهيوجلوبين . ٣ - التعرف على أنواع  
الحيوانات صاحبة الدم الملوثة للملابس أو الأسلحة (الأمر ذو الأهمية البالغة  
في أعمال الطب الشرعي) . ٤ - تشخيص حالات الوفاة بالجمرة الخبيثة باختبار  
يعرف Ascoli test . ٥ - تعيين نوع الحيوانات التي يكون الباعوض  
قد تغذى عليها حديثا ومثل هذه المعلومات تفيد علماء الحشرات والمهتمين  
بانتشار الأوبئة لمنع انتشار الأمراض التي تحملها الحشرات .

ويحضر الانتيجين اللازم لاختبارات الترسيب باستخلاص الخلايا ،  
البكتيرية أو الأنسجة أو المواد المناسبة الأخرى . فمثلا في اختبار اسكولي Ascoli  
للتعرف على مرض الجمرة الخبيثة . يؤخذ ١ - ٢ جم من أنسجة طحسالى  
الحيوان الميت وتغلى لمدة ٥ - ١٠ دقائق في كمية قليلة (عدة مليلترات) من  
محلول ملح فسيولوجى . ويجرى الاختبار بوضع ١ مل من المستخلص فوق  
١ مل من السيرم المضاد والمخضر بحقن أرنب بخلايا ميتة من ميكروب  
الجمرة الخبيثة .

وتحضر الانتيجينات في أغراض تصنيف طرز Streptococci بأخذ  
مزارع حديثة (٢٤ - ٤٨ ساعة) ثم تستخلص باستعمال محلول ص كل ١/٥  
أساسى لتعطى محلولاً رائقاً يحتوى على مواد يمكن ترسيبها وذلك بتعديل قيمة  
pH إلى «٧» باستعمال محلول ص ايد ١/٥ أساسى ذائبة في محلول فوسفاتى .  
وتعرف المجاميع السيرولوجية للبكتيريا Streptococci (A, B, C, D, E, F, G)  
تبعاً لوجود الانتيجين الجسمى المكون من كربوايدرات والذي يطلق عليه  
اسم المادة «C» كما تعرف الطرز السيرولوجية المختلفة بوجود المادة «M» بجدار

خلايا هذه البكتيريا وتزال الرواسب غير التخصصية للطرز non-type specific pricepitins بامتصاصها بالأجسام المضادة الموجودة بالسيرم المضاد باستعمال أنتيجين سلالة غير متجانسة من Streptococci . والانتيجين المحضر بالطريقة السابقة سوف يحتوى على كل من المادة «C» التخصصية . للمجموعة group specific وكذا على المادة «M» التخصصية للطرز type-specific ويجرى الاختبار بوضع طبقة من السيرم المضاد للطرز وطبقة مماثلة من الانتيجين في أنبوبة شعرية توضع في وضع قائم على حامل خاص . فإذا كان الاختبار موجبا تظهر حلقة عكرة في منطقة الاتصال بالمحلولين بعد عدة دقائق . وبهذه الطريقة يتعرف على المجموعة فإذا فرض أنها كانت تابعة للمجموعة « A » فيلزم إذن اختبار الانتيجين مع المصل المضاد للطرز التي تحتويها هذه المجموعة (A) للتعرف على الطراز المجهول .

#### اختبارات تثبيت المواد المكملة : Complement fixation test

تعتمد هذه الاختبارات على وجود أجسام مضادة محلاة للخلايا Cytolytic في سيرم الدم . وتعرف مثل هذه الأجسام المضادة باسم محلات البكتيريا bacteriolytic amboceptors أو محلات كرات الدم الحمراء hemolytic- amboceptors وهي تتكون بجسم الحيوان عقب حقنه بانتيجينات هي عبارة عن خلايا بكتيرية في الحالة الأولى أو كرات دم حمراء في الحالة الثانية .

وتجرى اختبارات تثبيت المواد المكملة هذه للتأكد من وجود أو غياب محلات بكتيرية معينة بسيرم الحيوان . تتضمن هذه الاختبارات نظامين معينين . أحدهما يتضمن دراسة النظام التحلى لخلايا البكتيريا في السيرم الذي يضاف إليه معلق بكتيرى (أو أى انتيجين آخر) وتخلط به المواد المكملة . فإذا كان الانتيجين المضاف وكذا الأجسام المضادة بالسيرم لها القدرة على الاتحاد في وجود المواد المكملة ، فيقال في هذه الحالة أن الأجسام المكملة قد تثبت . والنظام الآخر وهو النظام التحلى لكرات الدم يعتبر نظاما استكشافيا

في الاختبار . وتحضر محلات الدم هذه بحقن كرات الدم الحمراء لدم الأغنام في جسم أرنب وبعد إجراء التحصين بالانتيجين البكتيري يؤخذ السيرم المضاد ويضاف إلى كرات حمراء من دم الأغنام فاذا احتوى السيرم على المواد المكملة complement فان كرات الدم تتحلل . أما إذا كانت المواد المكملة قد ثبتت بالسيرم أثناء تفاعل المحلات البكتيرية مع الانتيجين فانه لا يحدث تحلل لكرات الدم الحمراء . لذلك فان حدوث تحلل لكرات الدم الحمراء يعنى اختبارا سالباً فيما يختص بتثبيت المواد المكملة والعكس صحيح . ومن الواضح أن كل المواد التي يتضمنها هذا الاختبار يجب أن تكون ذات تركيزات معينة ومضبوطة ويستعمل هذا الاختبار في الأغراض التشخيصية بالمعمل لكثير من الأمراض المعدية المتسببة عن البكتريات أو الفيروسيات أو الريكيتزيات أو البراتوزوات أو الفطريات كما أنها تستعمل أيضا في أغراض التعرف على كثير من البكتريات وعلى نواتج تفاعلاتها الايضية .

#### الطرق السيرولوجية الكمية : Quantitative serological methods

أن المصل المضاد الذي يمكن تقدير محتوياته من الأجسام المضادة بالدقة الكافية يعتبر مادة تخصصية كمية لقياس الانتيجينات الذائبة . وهناك جملة طرق خاصة بتقدير كمية الأجسام المضادة في الأمصال المضادة وفيما يلي أهمها وأكثرها استعمالا .

##### (١) التفاعلات التي تتم في السوائل :

أن تقدير الأجسام المضادة الحرة تختلف كثيرا عن تقدير الأجسام المضادة المرسبة . وتوجد أيضا بعض الطرق التي تعتمد على صبغ أو ضوئية تعتمد على تغيير الصفات البصرية لجدر الخلايا .

والأجسام المضادة المرسبة تقدر أولا باتباع طرق الترسيب الكمية والتي يضاف فيها كميات معلومة من الانتيجين إلى المصل المضاد وتترك فترة ليحدث

الترسيب ثم تجمع الرواسب وتغسل وتقدير بأحد طرق التقدير الكمي للبروتين وعادة تتبع طريقة كلداهل Kjeldahl في تقدير البروتين كميًا في الرواسب الناتجة . وعن طريق تقدير النيتروجين باتباع طريقة كلداهل كطريقة قياسية يمكن اتباع بعض الطرق الأخرى لتقدير درجة التفاعل الذي يتم بين الناتجين والأجسام المضادة . ومن أمثلة هذه الطرق الأخرى قياس درجة التعكير turbidity التي تقاس بجهاز الاسبيكتروفوتومتر .

#### (ب) التفاعلات التي تجرى في البيئات الشبه صلبة : Reaction in gels

هناك جملة طرق لأجراء مثل هذه التفاعلات وتعتمد جميعها على درجة انتشار الناتجين الذائب أو الأجسام المضادة أو الاثنين معا خلال جيل الآجار agar gel حيث يمكن مشاهدة آثار تفاعلها بشكل مناطق عكرة نتيجة لحدوث الترسيب . ويفضل استعمال هذه الطريقة لتحليل أو التعرف على مكونات ، المواد المتفاعلة المخلوطة لما يلي من مميزات : ١ - يمكن البدء بتركيزات ذات مجال واسع من المواد المتفاعلة حيث أن التدرج في انتشار المواد المتفاعلة سوف يسمح بحدوث التوازن بين تركيز الناتجين والأجسام المضادة . ٢ - يمكن حدوث تفاعلات للمكونات المختلفة للأناتجين المخلوط المستعمل مع عديد من الأجسام المضادة التي توضع في أماكن مختلفة في الآجار حيث يمثل كل مكون من مكوناته منطقة تفاعل منفصلة . ٣ - يسهل التعرف على وجود المكونات التي يمكن تفاعلها تبادليا cross-reacting components في التحضيرات المختلفة . ٤ - يتطلب هذا النوع من الاختبارات كميات صغيرة نسبيا من الأمصال المضادة . ٥ - يمكن ملاحظة تكوين المركبات البكتيرية الانتيجينية أثناء تكون المستعمرات البكتيرية النامية على آجار محتوي على أمصال مضادة معينة .

وتستعمل عدة طرق تعتمد على الانتشار بالآجار منها طريقة ابودين Oudin

(١٩٥٢) حيث يعتمد الانتشار في اتجاه واحد one dimension باستعمال



جيل الآجار المعبأ بالأنابيب . حيث يخلط المصل بكمية من الآجار توضع في قاع الأنبوبة ثم يضاف معلق الانتيجين إما على صورة محلول أو مخلوط بجيل الآجار . ومن مميزات هذه الطريقة أن تركيز المصل المضاد يكون ثابتا في الأنبوبة ، أما إذا اريد مقارنة التركيزات المختلفة يتبع ذلك في عدة أنابيب كما أنه يمكن التعرف على الانتيجين بغض النظر عن تركيزه على أساس كثافة المنطقة الترسيبية المتكونة والتي تتمثل في تركيز الأجسام المضادة وهذه الطريقة يمكن التعرف على الانتيجين المتواجد في مخلوط من المواد الأخرى .

الا أنه يؤخذ على هذه الطريقة أنه قد تتكون مناطق ترسيبية غير حقيقية ومؤقتة نتيجة للتغيرات الطفيفة في درجة الحرارة . وقد عدلت هذه الطريقة للتخلص من العيب المذكور بواسطة Oakley and Fulthrope (١٩٥٦) حيث يفصل الانتيجين عن الأجسام المضادة بمنطقة من جيل الآجار تسمح بانتشارهما .

وقد أوجد Oucherlony (١٩٥٢) طريقة يحدث فيها الانتشار في جيل الآجار في اتجاهين two dimensions بدلا من اتجاه واحد . وفي هذه الطريقة يوضع جيل الآجار في أطباق بترى ويعمل به عدة حفر wells يوضع بها الانتيجين أو السيرم المضاد . وبانتشار هذه المواد في الآجار يمكنها أن تتفاعل عند التركيزات المناسبة لكل منها at equivalence حيث تتكون الرواسب وباجراء التنظيم المناسب للحفر المحتوية على الانتيجين حول الحفرة المحتوية على السيرم المضاد فانه يمكن اختبار عدة عينات انتيجينية في وقت واحد باستعمال تحضير واحد من المصل المضاد . ومن المميزات الرئيسية لهذه الطريقة سهولة التعرف على المخاليط المعقدة من المكونات التي تتفاعل تبادليا cross-reacting وذلك عند حدوث اختلاط لمناطقها الترسيبية .

وقد أوجدت طريقة ممتازة تعتبر تحويرا لطريقة الانتشار في جيل الآجار

وتعرف باسم immunoelectrophoresis والتي أوجدها Garber and Williams (١٩٥٦) وقام poulik (١٩٥٩) بإدخال بعض التعديلات عليها .

وفي هذه الطريقة تفصل مكونات المخاليط البروتينية أولا باتباع طريقة electrophoresis في الجليل ثم يسمح لهذه المكونات بالانتشار في وجود المصل المضاد المناسب .

### الاتجاه الجزيئي والوراثي في التقسيم

حيث أن المعلومات الوراثية في خلية توجد في الـ DNA فإن القرابة بين كائنين يمكن إظهارها بالتقارب في التركيب الكلي وكذلك في تتابع قواعد البيريميدينات والبيورينات في الـ DNA . وفيما يلي وصفا مختصرا لأهم هذه الاتجاهات :

أ- تركيب الـ DNA : في تركيب الشريط المزدوج من الـ DNA نحدث أن نسبة الأدينين (A) adenine تساوي نسبة الثيمين (T) thymine وأن نسبة الجوانين (G) guanine تساوي نسبة السيتوزين (C) Cytosine . ومن المعروف أن نسبة الجوانين والسيتوزين C+G في الـ DNA تعتبر صفة ثابتة للنوع البكتيري وتتراوح بين ٢٢٪ لبعض أنواع الميكوبلازما إلى ٧٤٪ في بعض البكتيريا .

ويلاحظ أنه يعبر عن نسب الأربع قواعد بنسبة الجوانين والسيتوزين G+C وهي تساوى .

$$\frac{\text{جزيئات الجوانين} + \text{جزيئات السيتوزين}}{100 \times}$$

جزيئات الجوانين + جزيئات السيتوزين + جزيئات الأدينين + جزيئات الثيمين

والإختلافات في تركيب القواعد له قيمة في التقسيم فإن نسبة الجوانين

والسيتوزين في حالة *E.coli* تساوى ٥٠٪ وفي حالة *B. subtilis* تساوى ٤٠٪. ويلاحظ أن التشابه في تركيب القواعد لا يعنى بالضرورة علاقة بين الكائنين حيث أن ترتيب القواعد قد يختلف . فمثلا الإنسان لا يمكن أن يكون قريب الصلة بالبكتيريا *B. subtilis* حيث أن كلاهما نسبة الجوانين والسيتوزين تساوى ٤٠٪.

ب- التهجين في الـ DNA : عندما يسخن شريط مزدوج من الـ DNA فإن الشريطين المتكاملين ينفصلان وعند تخضين هذا الخليط من الشرائط المفردة لمدة من الزمن عند الحرارة المناسبة فإن الشرائط تتصاحب مرة أخرى لتكون شريط مزدوج مرة أخرى . وتكون خواصها متشابهة للشريط المزدوج الأصلي لجزئ الـ DNA وحدث أن تفاعلات إعادة المصاحبة تحتاج إلى أن الشريطين المفردين من الـ DNA يكون كل منهما مكمل للآخر لإعادة تكوين الحلزون المزدوج فإن نفس الطريقة يمكن أن تستعمل لبيان التشابه بين ترتيب القواعد في الـ DNA من كائنين قريبين في هذه الحالة فإن الشريط المفرد من الـ DNA من كائنين مختلفين يحضنان معا . فإذا كان الكائنين متقاربين فإن تتابع القواعد الآزوتية في الـ DNA سوف يكون متماثل وإن الشرائط المفردة سوف تتصاحب لتكون جزئ ذو شريط مزدوج .

ج- الاتجاه الوراثي في التقسيم : يحدث في عمليات التحول الوراثي Transformation والإنتقال الوراثي Transduction والتزاوج Conjugation تبادل وراثي عن طريق إدخال قطعة من الـ DNA من الكائن المعطى إلى كروموسوم الكائن المستقبل وحيث أن هذا يستدعى أن الـ DNA من الكائن المعطى والكائن المستقبل يكون كل منهما مكمل للآخر . فإن كفاءة عملية النقل الوراثي تقاس بالقرابة الوراثية .

## المراجع

- Cohn, M. 1952. in «Methods in medical research» p. 271 & 301. Year Book publisher, Chicago, Illinois.
- Committee on bacteriological technique, Society of American Bacteriologists. Manual of Microbiological Methods. McGraw Hill Book Co. Inc. NY. 1957.
- Deutsch, H.F 1952. in «Methods in medical research » p. 284 year Book Publishers, Chicago. Illinois.
- Kekwich, R. A. 1940. Biochem. J. 34 : 1248.
- Nester, E.W., E. Roberts, N. N. Pearsall and B. J. Mc Carty. 1978. Microbiology. Secand Edition. Helt, Rinehart and Winston . New York.
- Oakley, C. L. and A. J. Fulthroe. 1953 J. Pathol-Bacteriol. 65 : 49.
- Oudin, J. 1952. in «Methods in medical research» p. 335. Year Book Publishers, Chicago, Illinois.
- Poulik, M. D. 1959. J. Immunol. 82 : 502
- Schaub, Isabelle G., M. Kathryn Foley, Elvyn G. Scott. and W. Robert Bailey. 1958. «Diagnostic Bacteriology.» 5th ed. The C. V. Mosby Company. St. Louis.
- Williams, C. A. and P. Garber, 1956. J. Immunol. 74 : 158.





## الفصل الثانى

### تقسيم البكتيريا

#### Taxonomy Of Bacteria

بالرغم من أن تسمية وتصنيف البكتيريا تعتبر من الفروع الخاصة فى البكتيريولوجيا . إلا أنها لا تجذب الكثير من المشتغلين بهذا العلم . وعلم التقسيم عموماً هو عبارة عن ذلك الفرع من علوم الحياة الذى يختص باطلاق الاسماء على النباتات أو الحيوانات أو غيرها من الكائنات الحية وتنظيمها فى مجاميع تبعاً للعلاقات الطبيعية المتواجدة بينها . وفى الدراسات البيولوجية لا يمكن الفصل بين التسمية *nomenclature* والتصنيف *classification* حيث يعتمد كل منهما على الآخر اعتماداً كلياً . فمثلاً إذا أطلق اسم غير مناسب على كائن بكتيرى فانه يصعب تصنيفه ووضعته فى مكانه الطبيعى بين البكتيريات الأخرى والعكس يكون صحيحاً .

اذن فالهدف من التسمية هو اختيار الاسم المناسب لكائن معين لتأثيره المصطلح عليها والهدف من التصنيف هو ترتيب الكائنات المسماة فى مجاميع . بطريقة تبين التشابه الطبيعى بين أفراد المجموعة وتوضح الاختلافات بينها وبين المجاميع الأخرى ، من ذلك نرى أن التقسيم *taxonomy* يشمل عمليتين الأولى هى التسمية *nomenclature* والثانية هى التصنيف *classification*

والصعوبات التى أخرجت تقسيم البكتيريات تتمثل فيما يلى :

١ - تعدد فروع البكتيريولوجيا حيث كان لكل فرع أثره على مارك التسمية والتصنيف .

٢ - صعوبة جمع عينات من البكتيريا والاحتفاظ بها بحالتها الطبيعية لمدة طويلة دون أن يطرأ عليها تغيرات ، الأمر الذى لا يحدث بعينات النبات والحيوان .

٣ — تعدد تسمية البكتيريات ووجود أسماء محلية للميكروب الواحد تختلف باختلاف المناطق .

٤ — سرعة تكاثر البكتيريا بدرجة تجعلها أكثر عرضة للتصنيفات والتغيرات . variations

### تسمية البكتيريا :

إن التاريخ القديم يبين محاولة العلماء لتسمية الكائنات الحية فقد قام ارسطو Aristotle ٣٨٤ — ٣٢٢ قبل الميلاد بجمع نباتات عديدة مختلفة محاولا تسميتها وتقسيمها وتبعه في ذلك عدة محاولات إلى أن جاء العالم السويدي Carl von Linne ١٧٥٣ بوضع نظام التسمية المزدوج Binomial system لتسمية النباتات ، وقام بنشر مرجعين هامين هما Systema natura و Species plantarum . ثم أقتبس هذا النظام فيما بعد لتسمية الحيوانات والكائنات الدقيقة ، ولا زال مستعملا إلى الآن . وجاء بعد Linne علماء آخرون حاولوا تعديل طريقته في التسمية بأن أضافوا أسماء أخرى للأسم المزدوج ولكنها لم تقابل بنجاح كبير لاتصافها بالتعقيد .

ولما كانت البكتيريا تمتلك صفات كل من النباتات والحيوانات ، الأمر الذي أدى إلى ارتباك العلماء في اتباع الكود النباتي ( القوانين واللوائح الخاصة بتسمية وتقسيم النباتات ) أو اتباع الكود الحيواني لتسمية وتقسيم البكتيريا . وفي عام ١٩٠٣ اصطلح على اتباع الكود النباتي للتسمية وتقسيم البكتيريا . وفي عام ١٩٤٧ انشئ أول كود بكتيريولوجي International bacteriological code أثناء انعقاد الجمعية الميكروبيولوجية الدولية في كوبنهاجن بالدنمرك .

### الأسماء العلمية : Scientific names

لكل كائن حي نوعان من الأسماء ، اسماء دارجه common أو vernical أو trival وهذه الأسماء الدارجه تختلف من مكان لآخر فمثلا البكتيريا التي

تسبب مرض التيفود يشار إليها باللغة الانجليزية *Typhoid bacillus* وبالألمانية *Typhus bazillen* وبالفرنسية *Bacille typhique* . وتستعمل هذه الأسماء الدارجة وهي ذات طابع محلي عادة لغرض التبسيط بدلا من استعمال الأسماء العلمية المعقدة والطويلة .

والنوع الآخر من التسمية هو التسمية العلمية *Scientific names* أو *Collequial names* وهي الأسماء ذات الطابع الدولي يستعملها العلماء جميعا مهما اختلفت لغاتهم . وتكوين هذا النوع من الأسماء يراعى فيه نظام معين متفق عليه دوليا طبقا للمبادئ والقوانين التي جاءت بالكود البكتيريولوجي المقترح عام ١٩٤٧ . ويشمل هذا الكود مجموعة من اللوائح والتوصيات التي تشبه كثيرا تلك الخاصة بالكود النباتي إلا أنها تختلف عنه في بعض التفاصيل . ومن الأساسيات العامة في تسمية البكتيريا علميا ما يلي :

١ — البكتيريات المتشابهة والمتطابقة تماما تكون ما يسمى بالنوع *species* .

٢ — تبعا لنظام التسمية المزدوج *binomial* فإن كل نوع بكتيري يطلق عليه اسم مكون من كلمتين كل منهما يجب أن تكون لاتينية أو يونانية الأصل وإن لم تكن كذلك يجب أن تعامل معاملة لاتينية أو يونانية .

ويكتب عادة أول حرف من الكلمة الأولى وهي التي تشير إلى اسم الجنس *genus* بالحرف الكبيرة *capital letter* ، وقد يكون اسم الجنس المستعمل ، مذكرا أو مؤنثا أو ( محايدا *neuter* ) . فمثلا الاسم *Lactobacillus* لاتيني الأصل ( مذكرا ) والاسم *Sarcina* لاتيني الأصل ( مؤنثا ) و *Bacillus* لاتيني الأصل مذكرا و *Micrococcus* يوناني الأصل ( مذكرا ) و *Corynebacterium* يوناني الأصل ( محايدا ) و *Clostridium* يوناني الأصل ( محايدا ) و *Actinomyces* يوناني الأصل ( مذكرا ) .

وبعض أسماء الأجناس قد تكون أسماء لبعض الأشخاص تخليدا لذكراهم

وفي هذه الحالة يجب أن يعامل الاسم معاملة لاتينية مثل *Pasteurella* (تخليدا لذكرى باستير) و *Erwinia* (تخليدا لذكرى Erwin F. Smith) و *Neisseria* (تخليدا لذكرى A. Neisser):

والكلمة الثانية في الاسم العلمي تشير إلى النوع البكتيري وتعرف بالـ Specific epithet وهذه لا يكون حرفها الأول كبيرا (capital) إلا أنها عادة تكون :

(أ) صفة تتأثر بالاسم السابق لها في درجته بمعنى أنها تتبعه في الدرجة gender كما يلي *Sarcina alba* و *Bacillus albus* (مذكر) و *Bacterium album* (محايد).

(ب) صفة في صورة فعل مضارع (present participle)

<i>Clostridium dissolving</i>	أى	<i>Clostridium dissolves</i>
<i>adhering bacillus</i>	أى	<i>Bacillus adherens</i>

يلاحظ أن نهاية الكلمة تكون موحدة في كل الدرجات .

(ج) تكون الكلمة الثانية المكونة للاسم العلمي عبارة عن اسم يعطى معنى التملك للاسم السابق له :

<i>Salmonella of chicks</i>	أى	<i>Salmonella pollorum</i>
<i>Welch's clostridium</i>	أى	<i>Clostridium welchii</i>
<i>Strep. of milk</i>	أى	<i>Streptococcus lactis</i>

(د) أن يكون اسما للتوضيح بمعنى أنه يوضح طبيعة الاسم السابق له وليس هناك ما يدعو لأن يتبع الاسم السابق في الدرجة :

<i>Scab actinomyces</i>	أى	<i>Actinomyces scabies</i>
<i>rootdweller bacillus</i>	أى	<i>Bacillus radicicola</i>

ويمكن اضافة كلمة ثالثة إلى الاسم العلمى الثنائى ليشير إلى مؤلف الاسم الثنائى ، وليس للإشارة إلى مكتشف الميكروب كما قد يعتقد البعض .  
مثل *Bacillus subtilis* Cohn. أو *Bacillus coagulans* Hammer .

وأحيانا نشاهد أكثر من كلمة واحدة عقب الاسم العلمى الثنائى تكون الأولى منها بين قوسين كما يلى :

*Staphylococcus aureus* (Rosenbach) Winslow & Rogers

وهذا يعنى أن Rosenbach هو أول من سمي هذا الميكروب وأعطاه الاسم النوعى *specific epithet* ولكن كان قد وضعه تحت جنس آخر إلا أن Winslow & Rogers هما اللذان وضعوا هذا النوع تحت الجنس *Staphylococcus*.

أحيانا يقسم النوع إلى أصناف أو سلالات *varieties or strains* وهذا يحدث عندما تتواجد اختلافات بسيطة بين أفراد النوع لا تكفى لوضعها فى نوع مستقل . فمثلا سلالة البكتيريا *Streptococcus Lactis* التى يعطى اللبن طعم الشعير تعرف بالاسم *Strept.lactis var. maltigenes*

### تقسيم البكتيريا Classification of Bacteria

قبل أن ندرس تقسيم البكتيريا يجب أن نلم بمدلول بعض المصطلحات المستعملة فى الدراسات التقسيمية فمثلا :

النوع : Species

هى مجموعة تشمل كل البكتريات المتشابهة فى كل صفاتها . ويتركز لخبيرة الباحث تحديد الاختلافات التى قد تميز بين نوعين مختلفين حيث لا يوجد أى مبدأ قياسى فى هذا الصدد .

وقد عرف Hitchcock (١٩٢٥) النوع النباتى بأنه الوحدة التقسيمية



التي تتكون من مجموعة من النباتات المتشابهة . وحيث أن النوع هو اعتبار تقسيمي محض فانه من الصعب تعريفه وتحديدده . هذا وقد قرر كثير من العلماء بأن الصفات التي يمكن تقسيم النوع على أساسها يجب أن تكون صفات ثابتة وغير متغيرة .

الجنس : Genus

هي مجموعة تشمل الأنواع التي تتميز بصفات ثابتة وغير متغيرة ، ويجب أن يكون هناك علاقة بين هذه الصفات بمعنى أن جميع عدة أنواع تحت جنس واحد يجب أن يتم طبقا للتشابه في الصفات الطبيعية الثابتة التي ترجع إلى تطابق التركيب الوراثي للأنواع . وهناك عدة صعوبات لتصنيف الأنواع أهمها أن معظم الأنواع ليست مدروسة دراسة وافية . بدرجة تسمح بالتفرقة بين صفاتها الثابتة والأخرى التي تتغير طبقا للظروف البيئية علاوة على الصعوبة التي تتمثل في تعدد الأسماء الدراجة والمحلية للنوع البكتيري الواحد . وللتغلب على تلك الصعوبات يتحتم على مكتشف الأنواع الجديدة أن يبحثوا وينقبوا في المراجع البكتيريولوجية للتأكد من أن النوع الجديد المكتشف لم يوصف من قبل . فاذا كان الأمر كذلك كان عليهم القيام بوصفه وصفا دقيقا .

وقد يكون الجنس وحيد النوع بمعنى أنه يشمل نوعا بكتيريا واحدا monotypic أو أن يحتوي الجنس على عدة أنواع .

العائلة : Family

هي مجموعة من الأجناس المتشابهة أو المتقاربة . وعادة يشتق اسم العائلة من اسم الجنس المثالي لها type genus مع اضافة المقطع aceae فمثلا *Bacillaceae* سميت تبعًا لجنسها المثالي *Bacillus* و *Actinomycetaceae* سميت تبعًا لجنسها المثالي *Actinomyces* و *Spirochaetaceae* سميت تبعًا لجنسها المثالي *Spirochaeta*.

الرتبة : Order

مجموعة من العائلات المتشابهة أو المتقاربة ويشترك اسم الرتبة من اسم العائلة المثالية family type مع استبدال المقطع aceae بالمقطع (ales)

*Spirochaetales* و *Actinomycetales*

وهناك بعض المجموعات الفرعية مثل تحت الرتبة suborder أو التسمية tribe والأولى تقسم إلى عائلات في حين أن الثانية تقسم إلى أجناس .

الصف : Class

هو مجموعة من الرتب المتشابهة .

وتبعاً للطبعة الأخيرة ١٩٧٤ من المرجع Bergey's Manual فإن الكائنات ذات النواه البدائية فيها البكتيريا ضمت في مملكة قائمة بذاتها تعرف بمملكة البروكاريوتات Kingdom Prokaryotae

وقد وصفت البكتيريات في ١٩ جزء تبعاً لصفاتها الهامة وفيما يلي تقسيم هذه المملكة إلى صفوف وعدد ورقم الأجزاء التي يشملها كل صف .

Kingdom Prokaryotae

Division I : Phototrophic prokaryotes (photobacteria)

Class I : Blue green photobacteria

Class II : Red photobacteria

Class III: Green photobacteria

تمثل الجزء الأول

Division II : Prokaryotes indifferent to light (scotobacteria)

Class I : The bacteria

تمثل الأجزاء من ٢ — ١٧

Class II : Obligate intracellular Scotobacteria in eucaryotic cells (Rickettsias)

تمثل الجزء ١٨

Class III: Scotobacteria without cell walls

(Mollicutes)

تمثل الجزء ١٩

## الجزء الأول

البكتيريا الممثلة للضوء The phototrophic bacteria

الرتبة Rhodospirillales

بكتيريا ممثلة للضوء . الخلايا كروية أو عصوية أو ضمية أو حلزونية . قطر الخلية المفردة من ٣ إلى أكثر من ٦  $\mu\text{m}$  . في معظم الأحيان . التكاثر عن طريق الانفلاق العرضي . بعض الأنواع تتكاثر عن طريق التبرعم . سائلة الجرام . لون معلق الخلايا ، بنفسجي-قرمزي ، قرمزي أحمر ، برتقالي-بنى ، بنى أخضر . قد تحتوى على حبيبات كبريت . يوجد بالخلايا كلورفيل بكتيرى ( bactericchloro phyll a, b, c, d, ) وصبغات كاروتينية مثل ليكوبين ورودوبين و spirilloxanthin وليكوبينول وكلوروباكيتين .

ويختلف التمثيل الضوئى فى البكتيريا عن النبات فى أنه يحدث تحت ظروف غير هوائية ، ولا ينتج الأكسجين ، ويعتمد على وجود معطيات للإلكترونات مثل مركبات الكبريت المختزلة أو الإيدروجين الجزيئى أو مركبات عضوية . قد تثبت بعض الأنواع النيتروجين . توجد الصبغات فى نظام غشائى داخلى متصل بالغشاء السيتوبلازمى أو فى حويصلات vesicles كما فى حالة الجنس *Chlorobium* وهذه الحويصلات تكون متصلة بالغشاء السيتوبلازمى .

عائلة ١ : Family Rhodospirillaceae

تشمل مجموعة من البكتيريا تسمى البكتيريا القرمزية غير الكبريتية purple nonsulfur bacteria . الخلايا كروية أو عصوية أو ضمية أو حلزونية . التكاثر عن طريق الانفلاق العرضي أو التبرعم ، الخلايا متحركة بأسواط طرفية أو محيطية . توجد الصبغات فى نظام غشائى داخلى متصل بالغشاء

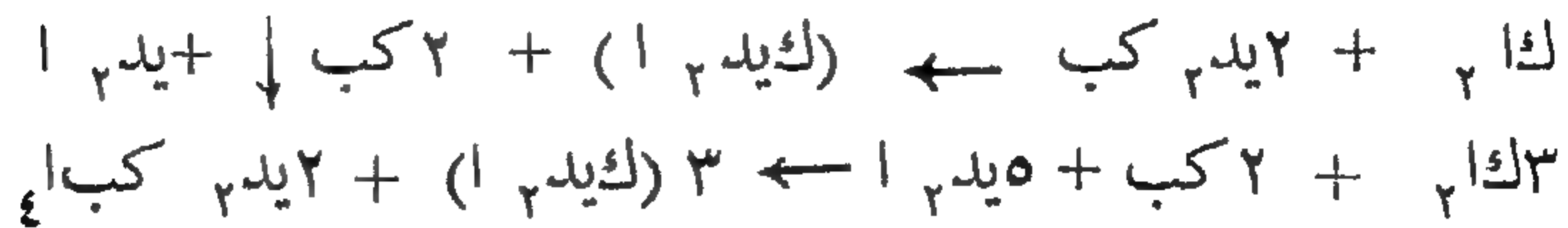




شكل ١٣٠ : خلايا البكتيريا *Rhodospirillum rubrum* لاحظ أن الأسواط على أحد أو كلا الطرفين . نادرا ماتحتوى الأسواط على أكثر من انحناء واحدة .

#### العائلة ٢ : Family Chromatiaceae

تشمل بكتيريات الكبريت القرمزية purple sulfur bacteria .  
 الخلايا كروية أو بيضاوية أو عصوية أو ضمية أو حلزونية . متحركة  
 أو غير متحركة . توجد أو لا توجد فجوات غازية . الخلايا تحتوى على  
 كلورفيل a أو b وكاروتينات مختلفة . توجد الصبغات الضوئية فى نظام  
 من أغشية متصلة بالغشاء السيتوبلازمى . الخلايا قادرة على النمو فى وجود  
 الكبريتيد أو الكبريت كمعطى وحيد للإلكترونات . فى وجود الكبريتيد  
 فإنه تتكون حبيبات كبريت داخل الخلايا . فى جنس واحد فقط يترسب  
 الكبريت خارج الخلايا وهو الجنس *Ectothiorodospira*



الأنوع المتحركة لها أسواط طرفية . الحركة البطيئة جدا لمجاميع



الخلايا تظهر في الطرز التي تحتوى على فجوات غازية . معظم الأنواع غير هوائية إجبارا .

معظم الأنواع تستطيع إستعمال مواد عضوية فى غياب كبريتيد الإيدروجين أو الكبريت ولذلك فكل الطرز تعتبر مختلطة التغذية . بعض الأنواع تثبت النيتروجين الجزيئى . بعض الأنواع تحتاج إلى فيتامين ب<sub>١٢</sub> .

فى الطبيعة توجد أفراد العائلة فى البيئات المائية غير الهوائية والتي تحتوى على كبريتيد .

ويوجد عدد من الأجناس تتبع هذه العائلة وهى :

*Lamprocystis* و *chromatium* و *Thiocystis* و *Theosarcina*

*Thiopedia* و *Thiospirillum* و *Thiocapsa*

*Amoebobacter* و *Ectothiorhodospira* و *Thiodictyaon*

### العائلة ٣ : Family Chlorobiaceue

وتشمل هذه العائلة بكتيريا الكبريت الخضراء *green sulfur bacteria* . الخلايا تحتوى على كلوروفيل بكتيرى C أو D أو كاروتينات مختلفة مع كميات صغيرة من كلوروفيل <sup>a</sup> . الصبغات الضوئية توجد فى حويصلات والتي تقع تحت الغشاء السيتوبلازمى وتكون متصلة بالغشاء السيتوبلازمى . التكاثر بالإنغلاق غالبا . فى جنس واحد *Chloropseudomonas* فإن الخلايا متحركة بأسواط طرفية والأجناس الأخرى غير متحركة . الأجناس قد تحتوى أو لا تحتوى على فجوات غازية .

وتعتمد على ظروف المزرعة أو الظروف البيئية فإن معظم الأنواع تكون قادرة على التكشف إما إلى خلايا فردية أو كتل من خلايا لها أشكال مختلفة

مع وجود هلام بدرجات متفاوتة . في وجود الكبريتيد فإن الكبريت يترسب خارج الخلايا ولا يوجد مطلقا داخل الخلايا .

كأ<sup>٢</sup> + يد<sup>٢</sup> كب — ← (كيد<sup>٢</sup> أ) + ٢ كب ↓ + يد<sup>٢</sup> أ

المزارع تكون خضراء أو بنية . كثير من السلالات تحتاج فيتامين ب<sup>١٢</sup> للنمو . كل الطرز غير هوائية . كثير من المركبات العضوية تمثل ضوئيا في وجود يد<sup>٢</sup> كب و كأ<sup>٢</sup> مثل الخلات ولذلك هذه العائلة تعتبر مختلطة التغذية . عدد من السلالات تثبت الآزوت الجوى .

والعائلة تشتمل على عدد من الأجناس هي :

*Prothecochloris* و *Chlorobium* و *Pelodictyon* و  
*Chloropseudomonas* و *Clathrochloris*

## الجزء الثاني

### البكتيريا الزاحفة The Gliding bacteria

وتتميز هذه المجموعة من البكتيريا بالحركة الزحفية التي تقوم بها الخلايا

وتقسم إلى رتبتين Order Myxobacterales و Order Cytophagales

الرتبة الأولى: Order Myxobacterales

وهي تشمل البكتريات الهلامية التي تكون ثمار The fruiting Myxobacteria. عصويات وحيدة الخلية. ١٥ um < في القطر . عادة تكون مغمورة في طبقة من الهلام slime . الخلايا العصوية قد تكون إسطوانية مع وجود الأطراف المستديرة أو قد تكون النهايات مستدقة لحد ما . التكاثر عن طريق الانفلاق العرضي . قادرة على الحركة الزحفية البطيئة عند ملامستها لسطح صلب وتفتقر لأعضاء الحركة . سالبة لجرام . تحت الظروف المناسبة فإن الخلايا تتجمع لتكون أجساما ثمرية تتكون من الهلام والخلايا تكون غالبا ذات ألوان زاهية وتظهر بالعين المجردة . الخلايا في داخل الأجسام الثمرية تصبح

خلايا ساكنة وتسمى myxospores . في بعض الأجناس فإن هذه الجراثيم لا تتميز بسهولة عن الخلايا الخضرية وفي أجناس أخرى تكون أكثر كثافة ضوئية أو لامعة . ومحاطة بغلاف وتكون أقصر في الطول أو كرويات وتسمى حويصلات microcysts . الأجسام الثمرية قد تتكون ببساطة من كتل من الملام والخلايا أو أن ال myxospores قد تكون موجودة داخل أكياس جرثومية sporangia لها أشكال مميزة وقد تكون مرتفعة عن الوسط التي تنمو فيه على حوامل بسيطة أو متفرعة . من الوجهة الغذائية تعتبر Chemocorganotrophs دوائية إجبارا . الحصول على الطاقة بطريقة تنفسية ولا تكون بطريقة تخضرية . الأنواع قادرة على إنتاج الإنزيمات التي تحلل الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات والأحماض النووية وإسترات الأحماض الدهنية وعديدات السكر ومنها السليلوز . بعض منها قادرة على تحليل الكائنات الدقيقة . لا تحتوي على صبغات للتمثيل الضوئي ولكنها تحتوي على أصباغ كاروتينية وصبغات ميلانين .

معظم الأنواع توجد في التربة وقد تتكشف على المواد النباتية المتحللة وقلف الأشجار الحية أو السماد الحيواني . وجودها في الطبيعة أو المعمل يكتشف عن طريق ظهور الأجسام الثمرية . يوجد نوع واحد ذو طبيعة مائية . معظم الأنواع تفشل في النمو على البيئات العادية .

الخلايا الخضرية تتميز عن غيرها من الخلايا البكتيرية عن طريق الحركة الإنزلاقية وغالبا عن طريق إلتوائها ومرونتها إلا إنها لا تختلف كيمائيا أو في التركيب الدقيق عن الخلايا البكتيرية السالبة لجرام . وتمثيل الخلايا لأن تتحلل ذاتيا لتكون بروتوبلاست كروى تحت ظروف غير الهوائية أو الزرع في بيئة مرتفعة الحرارة أو في المزارع القديمة أو في وجود بعض الكاتيونات .

في العادة تصبغ بقلة بالطرق العادية وتنشوه بالتثبيت الحراري . ولذلك فأفضل طريقه لدراسة الخلايا الخضرية بإستعمال مجهر الأطوار المتباينة . وتتواجد الخلايا المتحركة في مجاميع من ٢ - ٣ خلايا متجاورة جنبا لجنب .

وأحيانا تتواجد في مجاميع تحتوى على مئات من الخلايا وهذه المجموعة من الخلايا يمكنها ان تتحرك معا كوحدة واحدة في حركة زحفية بعيدا من مركز المستعمرة وتترك هذه الكتلة المتحركة طبقة من المواد الهلامية على خط سيرها .

وتقسم هذه الرتبة إلى ٤ عائلات كالآتى :-

١ — الخلايا الخضرية مستدقة الأطراف وتكون حويصلات microcysts

١ — microcysts كروية أو بيضاوية

Family I *Myxococcaceae*

بـ الـ microcysts عصويات

ب ١ — لا توجد microcysts في أكياس جرثومية

Family I I *Archangiaceae*

ب ٢ — توجد الـ microcysts في أكياس جرثومية

Familg I I I *Cystobacteraceae*

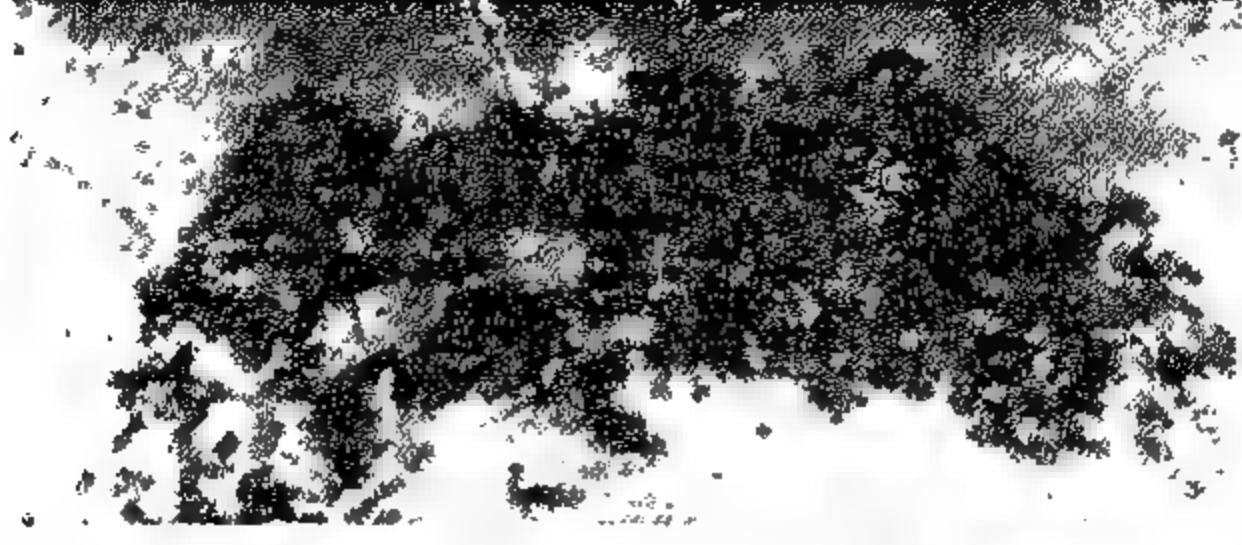
٢ — الخلايا الخضرية لها أقطار متماثلة وأطرافها مستديرة . Myxospores

تشبه الخلايا الخضرية . Family IV *Polyangiaceae*

عائلة — *Myxococcaceae*

خلايا خضراء عصوية الشكل (شكل ١٣١) تتحول الى خلايا مستريجة قصيرة عن طريق تكون الأجسام الثمرية ، حيث تتحول الى أجسام صغيرة بيضية أو كروية . microcyts

وعند إنبات الحويصلات الصغيرة تتكون خلايا خضربة بطريقة تشبه التبرعم تخرج تاركة جدار الجرثومة أو الحويصلة فارغا . . تتكون أجسام ثمرية مميزة في ثلاثة من أجناسها الا أنه في جنس *Spovocytophaga* تتكون الجراثيم (الحويصلات) مفردة بدون أجسام ثمرية . وتشمل هذه العائلة الجنس التالى :



vegetative swarms

شكل ١٢١ : خلايا خضرية

تشاهد مرتبة في خطوط متوازية بالطريقة التي تتحرك بها حول مركز تجمعاتها . الصورة مصبغة بصبغة Giemsa لتظهر التركيبات النووية .

جنس — *Myxococcus*

تتكون حويصلاته بداخل أجسام ثمرية قمعية أو دائرية بيضية الشكل قائمة على سطح البيئة (شكل ١٦٨ - ١) تلتحم ببعضها عن طريق مواد هلامية لزجة . النوع المثالي *Myxococcus Flavus*

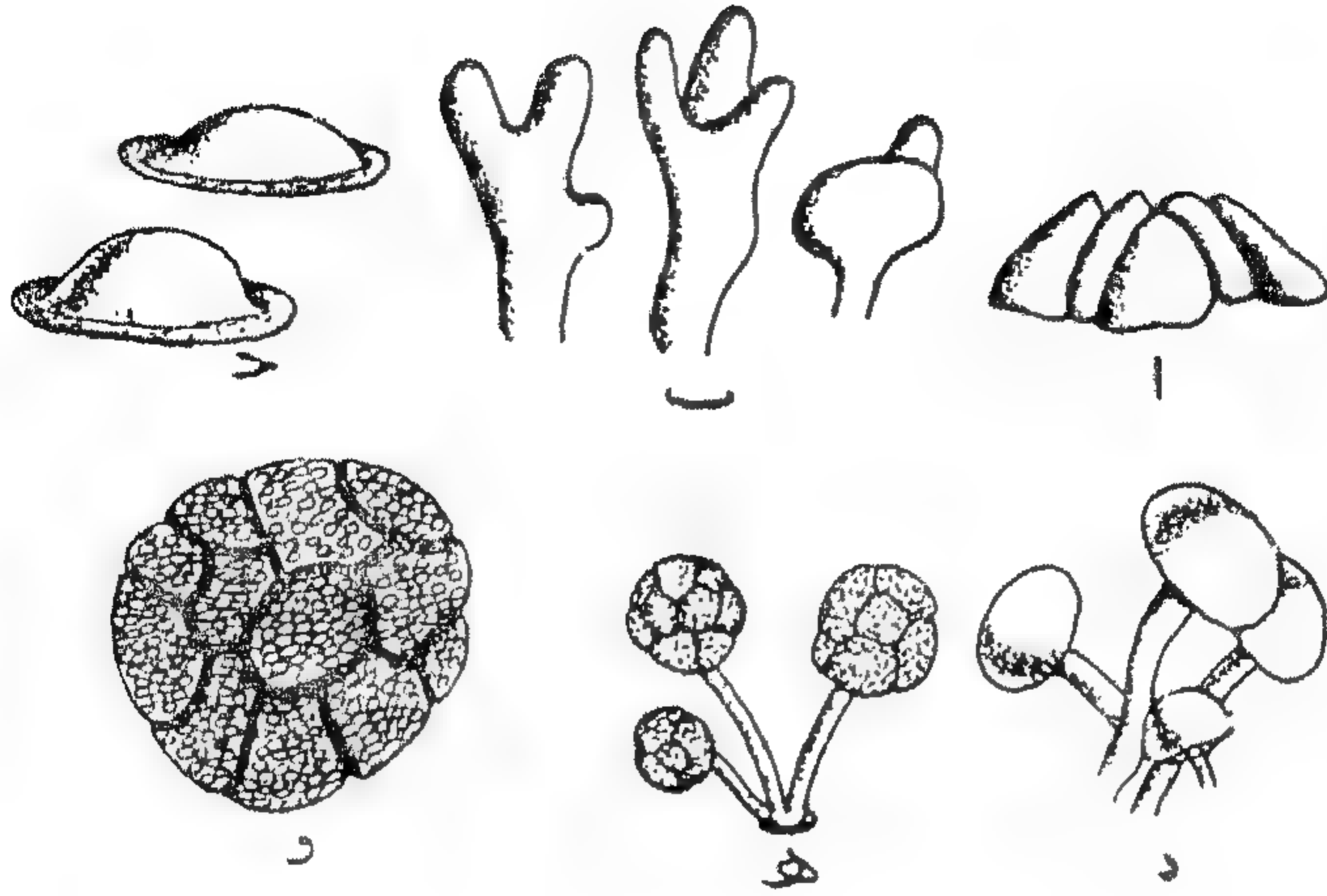
عائلة — *Archangiaceae*

تتميز هذه العائلة بتكوين أجسام ثمرية غير منتظمة ومنتفخة (شكل ١٣٢-ب) كما أنها تكون عمودية على البيئة النامية عليها بحيث تبلو بشكل للأصابع . لا يمكن تمييز جدرها كما أن خلاياها الخضرية تتميز بتكوين كتلة خلوية متحركة (pseudoplasmodium)

جنس — *Archangium*

تتميز أنواع هذا الجنس بأن خلاياها الخضرية العصوية التي تكون محاطة عادة بمادة هلامية ، يمكنها أن تكون أجساماً ثمرية جالسة تتخذ شكلاً قرصياً مستديراً وأحياناً أنبوبياً منتفخاً . وقد تظهر تفرعات بشكل القرون (شكل ١٣٢-ب . ج) ومن الداخل يظهر الجسم الثمري كالأمعاء الملتفة حول بعضها . وقد يكون الالتفاف منتظماً أو غير منتظم .





شكل ١٣٢ : رسم تخطيطي للأجسام الثمرية التي تكونها البكتيريات الزجاجية (أ) نوع بسيط يعرف باسم *Myxococcus* type (ب ، ج) نوع بسيط جالس أو معنق يعرف باسم *Chondrococcus* type (د) نوع معنق ذو حويصلات بسيطة *Myxococcus* (هـ) نوع معنق ذو حويصلات مركبة *Sorangium* group. (و) جسم ثمرى جالس من النوع *Sorangium* يتكون من عدة حويصلات ثانوية والمحتوية على أعداد كبيرة من الحويصلات الصغيرة *microcysts*.

ويبدو ان الأجسام الثمرية ليست محاطة بجدار أو غشاء ولكنها تحاط بطبقة من الإفرازات الهلامية الزجاجية .

#### عائلة — *Polyangiaceae*

توجد الخلايا المستريجة بداخل حويصلات محددة التركيب وهذه توجد بداخل الأجسام الثمرية . والأجسام الثمرية تكون محاطة بجدار مميز يتكون نتيجة لتصلب الطبقة المحاورة من المواد الهلامية . وقد يتخذ الجدار ألواناً زاهية تتراوح بين الأصفر والأحمر المائل للون البني . وتتحد الحويصلات ببعضها عن طريق غشاء هلامي واضح وهي بقايا المواد الهلامية التي أفرزتها الخلايا الخضرية قبل تكوين الحويصلات وقد تتكون الحويصلات مفردة أو متجمعة على حامل واحد . وفي الأنواع الأكثر رقياً يتفرع الحامل وتحمل الحويصلات على تفرعاته . :

جنس - *Polyangium*

الحوصلات مستديرة . جالسة . تتكون منها أعداد كبيرة . تتواجد مفككة عن بعضها أو ملتحمة ومحاطة بغشاء هلامي .

جنس - *Chondromyces*

الحوصلات مستديرة أو بيضية أو مدببة تحمل عدداً عنها على الحوامل التي قد تكون متفرعة (شكل ١٣٣)

الرتبة الثانية *Oreder Cytophagales*

الخلايا عسوية أو خيوط وقد توجد *Hormogonium* أو خلايا ساكنة - لا تنتج أجساماً ثمرية . الحركة زحفية على الأقل في مرحلة مرفولوجية واحدة . سالبة لجرام . التغذية *Chemolithotrophs* أو *Chemorganotrophs*



شكل ١٣٣ : (أ) رسم تخطيطي - يبين خطوات تكون الأحسام الثمرية (cystophores) في البكتيريا الازجة *Chondromyces crocalus* (ب) صور فوتوغرافية لنفس الخطوات .

أو مختلطة التغذية . كل الكائنات التي وضعت في هذه الرتبة لها صفة واحدة مشتركة وهي الحركة الزحفية على السطوح الصلبة .

تشمل هذه الرتبة عدة عائلات منها

عائلة — Family *Cytophagaceae* :

تتميز هذه العائلة عن العائلات الأخرى في أنها لا تكون خلايا مستريحة resting cells أو أجساما ثمرية . أفرادها خلايا مرنة مدببة الأطراف تتحرك حركة زحفية وتحتوي العائلة على جنس واحد وهو :  
*Cytophaga* تتصف أنواعه بصفات العائلة .

عائلة — *Beggiatoaceae*

تتواجد خلاياها باستمرار في خيوط trichomes لا يمكن مشاهدة الخلايا المكونة للخيوط إلا عقب صبغها تشبه كثيرا أفراد عائلة *Oscillatorieaceae* التابعة للطحالب الخضراء المزرقمة فيما عدا غياب الكاوروبيل والبايكرسيانين . عندما تنمو في وجود (يد م ك ب) فإن الخلايا المكونة للخيوط تكون محتوية على حبيبات كبريت . لا تكون أعضاء تكاثر معينة . وأفراد هذه العائلة تعرف ببكتيريا الكبريت الخيطية عديمة اللون *coloreless filamentous* *sulfu bacteria* وتشمل هذه العائلة عدة أجناس هي

جنس — *Beggiatoa*

يشبه الطحالب الخضراء المزرقمة التابعة لجنس *Oscillatoria* في حركتها الزحفية على السطوح الصلبة . الخيوط لاتحاط بأغلفة . الخيوط مستقيمة غير منحنية وليست ملتفة على بعضها بصفة دائمة . تتواجد الخيوط مفردة أو في مجاميع بيضاء قشدية اللون والتي يظل فيها الخيط محتفظا بوحده . النوع المثالي  
• *Beggiatoa albus*

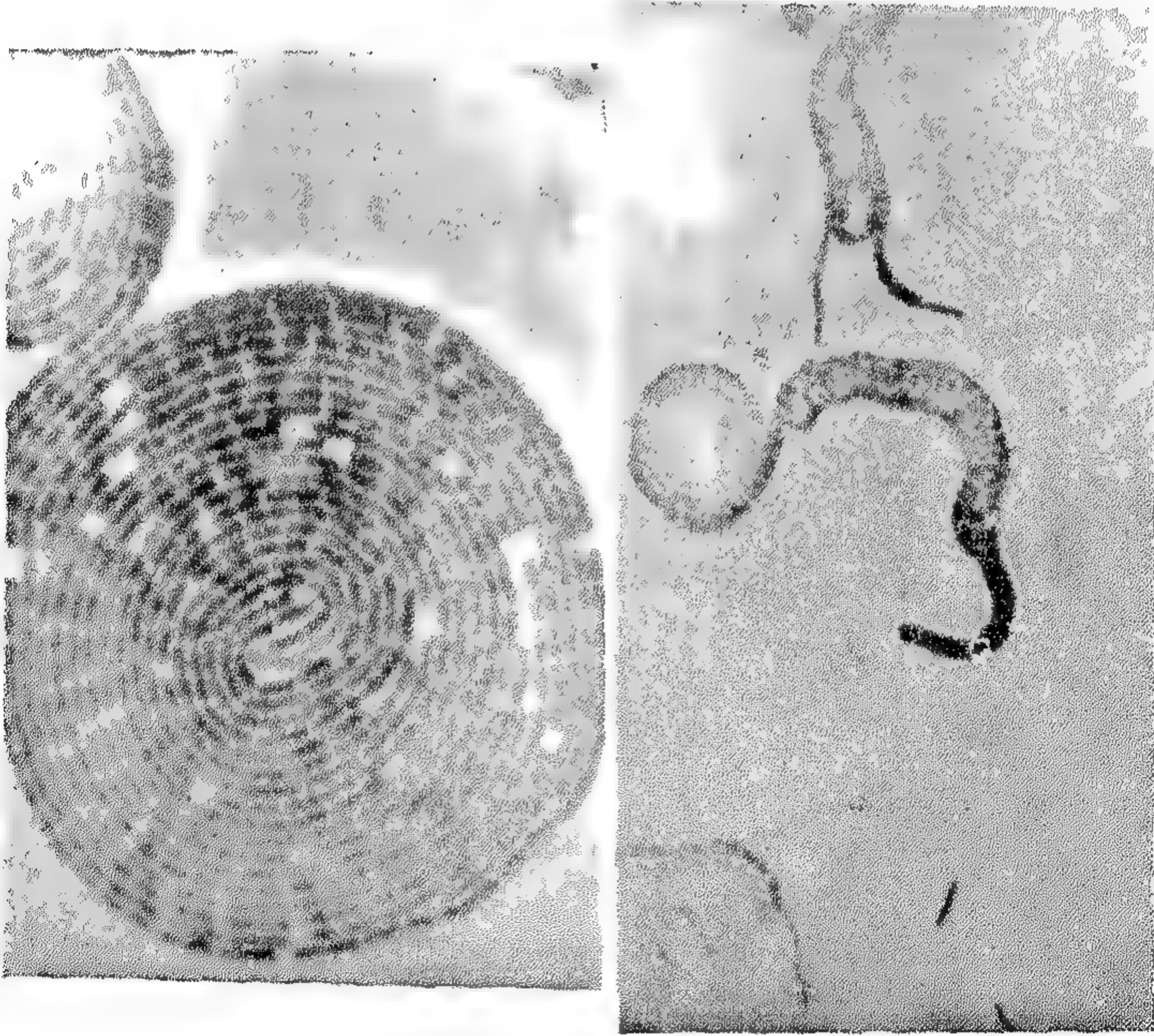


جنس *Vitreoscilla*

تشبه أفراد هذا الجنس أفراد الجنس السابقة فيما عدا غياب حبيبات الكبريت حيث تكون غائبة من الخلايا حتى لو نمت في بيئة تحتوي على (يد، كـب) . وبين (شكل ١٣٤) التركيب المورفولوجي لأفراد هذه العائلة.

جنس — *Thioploca*

خيوط مقسمة ذات قمة رفيعة تشبه أفراد جنس *Beggiatoa* ولكنها توجد في حزم متوازية محاطة بغلاف لزج slimy sheath سميك مكون من مواد هلامية لزجة . وقد تتحرك الخيوط الفردية بداخل الغلاف اللزج السميك حركة زحفية . النوع المثالي *Thioploca schmidtei* .



شكل ١٣٤ : بكتيريا تتبع جنس *Vitreoscilla* الصورة اليمنى تبين التركيب الظاهري للخلايا وكيفية تجمعاتها — اليسرى : تبين جزء من النمو بعد تكبيره .

عائلة — Faimly *Leucotrichaceae* :

الخيوط غير متحركة إطلاقاً بالرغم من أن وحدات التكاثر التي تكونها والتي تعرف باسم جونيديات (gonades) يمكنها أيضا القيام بحركة زحفية . يتبع هذه العائلة الجنس *Leucothrix* .

عائلة — Family *Achromatiaceae*

وهي تتبع هذه الرتبة مؤقتاً

توجد الخلايا مفردة وليست في خيوط ، وتقوم بحركة اهتزازية تدحرجية rolling movement . وتحت ظروف بيئية معينة نجد الخلايا تحتوي على بلورات من كربونات الكالسيوم . تشتمل العائلة على جنس واحد هو :

جنس — *Achromatium*

خلاياه كبيرة نسبياً مفردة . بيضية أو كروية . تحتوي حبيبات كبريت عندما توجد في بيئة تحتوي على ( يد ، كب ) وكذلك على بلورات من كربونات الكالسيوم . خلايا غير متحركة تظهر حركة انزلاقية تدحرجية بسيطة بطريقة مستقلة عن السطح النامية عليه والنوع المثلالي *Achromatium oxaliferum* والذي يتميز بوجود بلورات كربونات الكالسيوم بخلاياه . يوجد في المياه العذبة وفي التربة الغدقة .

الجزء الثالث

البكتيريا المغلفة The Sheathed bacteria

تعرف أيضا بالبكتيريات شبيهة الطحالب . إلا أنها عديمة اللون تتواجد في خيوط trichomes قد تكون ذات غلاف ensheathed أو غير مغلفة غير متفرعة حقيقياً ، ولكنها قد تظهر نوعاً من التفرع الكاذب . والأفرع الكاذبة



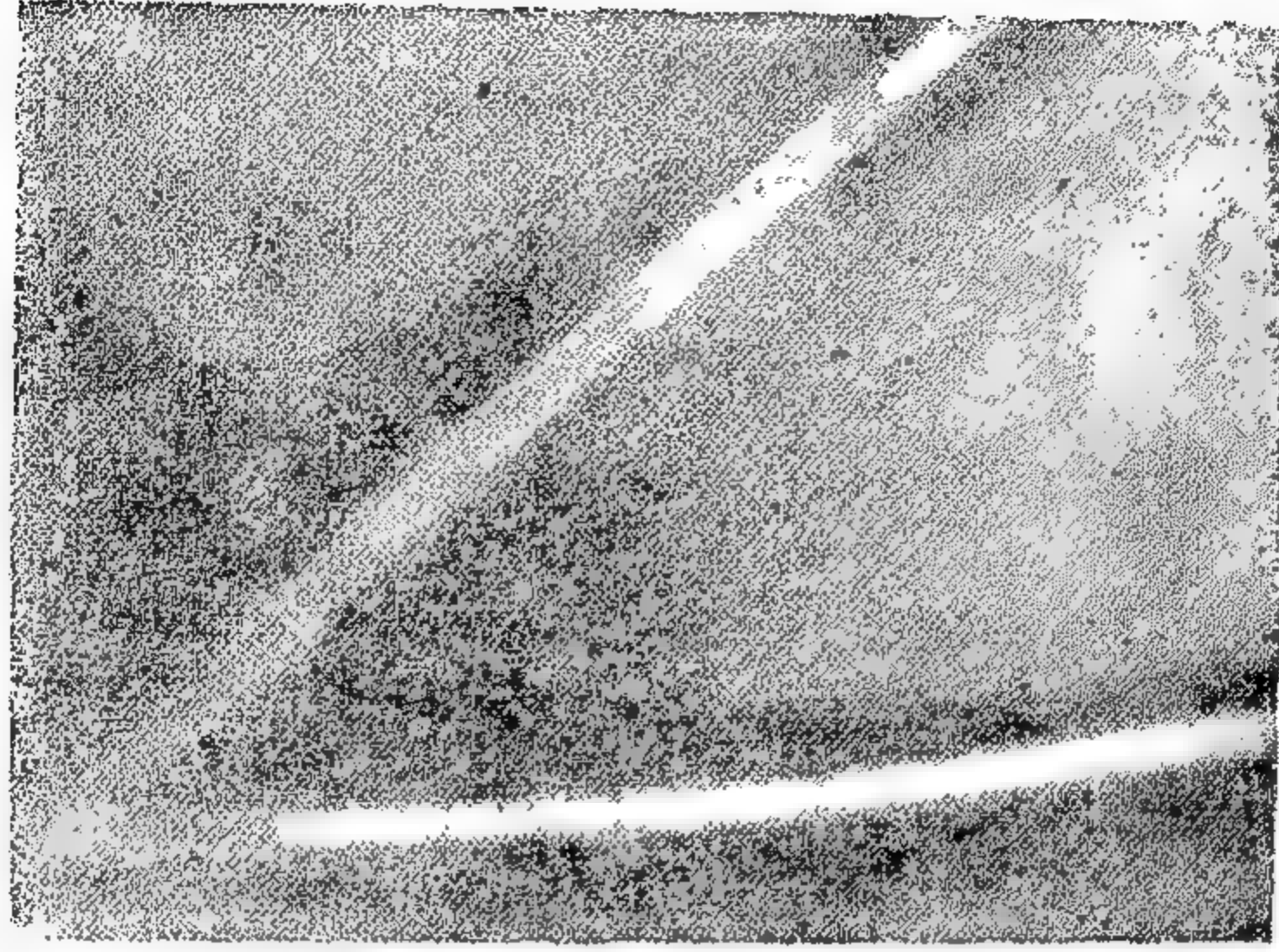
تنشأ عادة عندما تتواجد خلايا الخيط في وضع غير طبيعي بداخل الخيط فينشأ عنها فرع جديد محاط بالغلاف الأصلي للخيط .

ويتكون الغلاف من مادة أساسية عضوية تكون مشبعة بأكسيد الحديد أو المنجنيز أو تكون خالية كلية من أكاسيد المعادن . الخلايا الفردية المكونة للخيط سالبة لصبغة جرام ذات أسواط طرفية تشبه في مظهرها أفراد رتبة *Pseudomonadales* . تتكاثر عن طريق جراثيم سوطية متحركة *flagellated* *swarm spores* أو عن طريق الجراثيم الكونيدية العديمة الحركة . لا تكون جراثيم داخلية مثل تلك التي تكونها أنواع الجنس *Bacillus* . أفراد هذه المجموعة بكتيريات مائية تعيش في المياه العذبة والمياه المالحة . والخلايا الفردية منها قد تظهر اختلافات مورفولوجية تبعاً للظروف البيئية النامية عليها وكان لهذا أثره في صعوبة تصنيف وتقسيم أفراد هذه الرتبة من البكتيريات .

ومن أهم مميزات هذه المجموعة وجود الأغلفة الأنبوبية المحيطة بالخيط ، ومن هنا جاءت تسميتها بالبكتيريات المغلفة . وأفراد هذه الرتبة لا تستعمل كثيراً في الدراسات الميكروبيولوجية الروتينية لذلك كانت المعلومات الخاصة بها قليلة نسبياً .

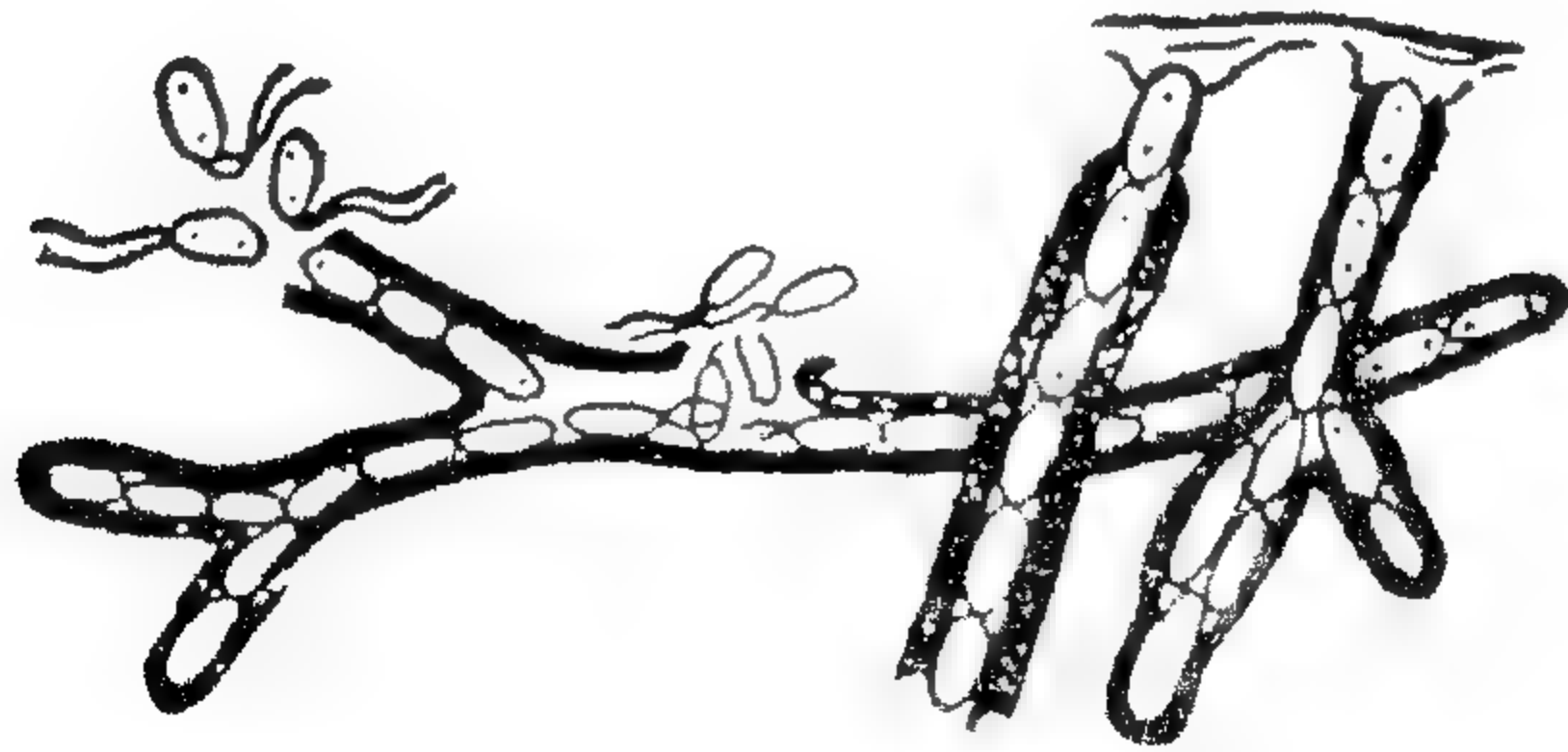
وتخرج الجراثيم السوطية المتحركة من فتحة نهائية في قمة الخيط عادة أو من أى كسر يحدث للغلاف . والأغلفة الفارغة ترسب وتتراكم في البيئة بعد خروج وانطلاق الجراثيم المتكونة بها .

ومن أهم أجناس هذه المجموعة *Sphaerolitus* وقد درست أنواعه بدرجة أكبر من غيره من بكتيريات هذه الرتبة . تتواجد خلاياه في سلاسل أو في خيوط محاطة بغلاف *Sheath* . ويتكون الغلاف من النشاط الإفرازى للخلايا المكونة للخيط وتحتوى على أملاح غير ذائبة من الحديد والمنجنيز ، وقد يتفرع الغلاف ليعطى الكائن مظهراً متفرعاً ، إلا أن هذا التفرع يكون كاذباً وليس تفرعاً حقيقياً (شكلي ١٣٥، ١٣٦) . والخلايا التي تنطلق



شكل ١٣٥ : بعض خيوط من البكتيريا *Sphacrotilus natans*  
مصبوغة بالنيجروسين تباينات الخيط ١×٢-٦ ميكرون لاحظ أن الغلاف قديم  
بلوله الى عدة مليترات .

من الفتحة القمية للخيط أو من أى مكان يكسر عنه الغلاف تكون سائلة لصبغة  
جرام وذات أسواط طرفية تشبه إلى حد ما خلايا البكتيريا *Pseudomonade* .



شكل ١٣٦ : رسم تخطيطى لخيوط من جنس *Sphaerotilus* تبين الغلاف (Sheath) ،  
والماسك (holdfast) والخلايا المتحركة motile swimmers والتفرع الكاذب .

وهذه المجموعة تتبعها أجناس أخرى هي *Leptothrix*  
*Crenothrix* و *Streptothrix* و *Lieskeella* و  
*Clononothrix* و *Phragmidiothrix* و

#### الجزء الرابع

البكتيريا المتبرعمة و / أو البكتيريا ذات الزوائد

Budding and / or Appendaged Bacteria

وهي مجموعة من البكتيريا تتكاثر عن طريق التبرعم و / أو قد تكون لها زوائد نصف صلبة تمتد من الخلايا وقطر هذه الزوائد دائما أقل من قطر الخلايا وتحاط بالجدار العلوي غالبا .  
ويتبع هذه المجموعة عدد من الأجناس : -

الجنس - *Hyphomicrobium*

أفرادها ذات خلايا كثرية تتصل بالسطوح الصلبة عن طريق حوامل اسطوانية طويلة ذات مواسك مميزة holdfasts عند قواعدها . وقد تكون الحوامل مفردة أو تتكون في مجاميع متشعبة ذات ماسك واحد . تنمو على سطوح المياه العذبة . لا يمكن تنميتها في البيئات الصناعية .



شكل ١٣٧ : (أ) خلايا من البكتيريا التابعة لجنس *Caulobacter* ملتصقة بخلايا البكتيريا *Bacillus .sp* (ب) مجموعة من خلايا تابعة لنفس الجنس *Caulobacter* متصلة معا عن طريق ماسك مشترك .



### الجنس *Gallionella* والجنس *Caulobacter*

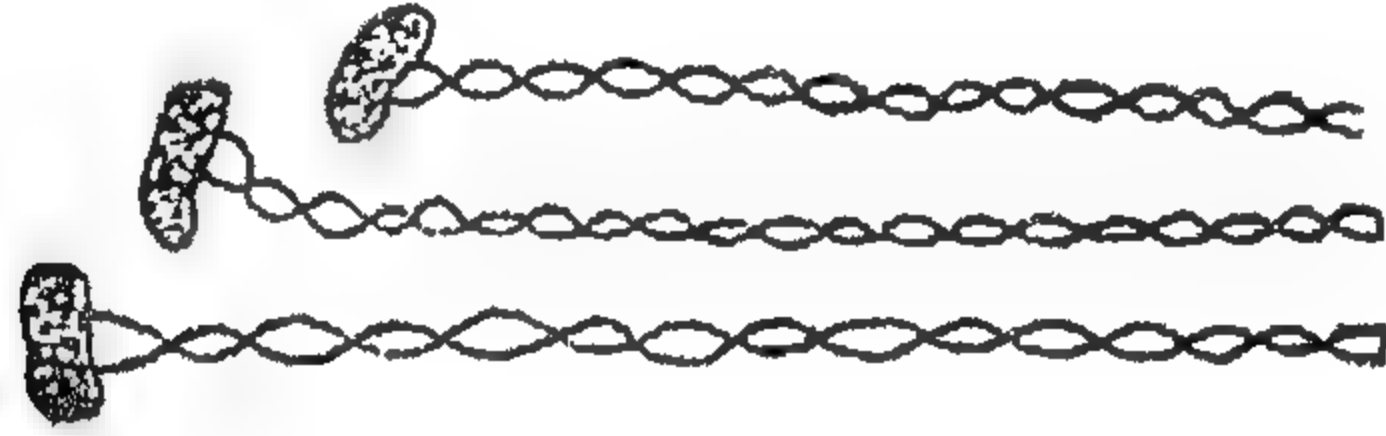
يطلق على أفراد هذين الجنس البكتيريات المعنقة *Stalked bacteria* وتتجمع هذه الأعناق في مواسك *Holdfasts* رقيقة تستعمل في إلتصاق الخلايا بالمادة النامية عليها . والخلية الفردية إما أن تكون عصوية مستقيمة منحنية وهي عادة سالبة لصبغة جرام ذات أسواط طرفية. تتواجد أفراد هذه المجموعة طبيعياً في المياه العذبة أو المملحة . ومن أهم أجناسها جنس *Gallionella*، *Caulobacter*. ففي جنس *Caulobacter* (شكلي ١٣٧ ، ١٣٨) يلاحظ أن المحور الطولي للحامل *stalk* يكون موازياً للمحور الطولي للخلية وعدة



شكل ١٣٨ : (أ) خلية تابعة لجنس *Caulobacter* ذات حامل (stalk) متصل بخلية من البكتيريا *Bac. subtilis* (ب) خلية مشابهة في طور متقدم من النمو لاحظ انقسامها واحتوائها على سوط طرفي من أحد أطرافها وعنق أو حامل من الطرف الآخر لاحظ تحلل خلية البكتيريا النامية عليها وانها ذات أسواط جسمية .

تشاهد مجاميع من هذه الخلايا المعنقة متصلة بماسك holdfast مشترك وملتصق بالمادة النامي عليها .

وأفراد الجنس Gallionella (شكل ١٣٩) تكون خلاياه منهنية بحيث تظهر بشكل كروي كما يكون المحور الطولي للخلية متعامداً مع المحور الطولي للعنق الطويل . والخلية لها أكثر من عنق واحد وتكون هذه الأعناق طويلة وملتفة ومشبعة بايدروكسيد الحديد . وتتواجد أفراد هذا الجنس أيضاً في المياه وبخاصة المياه المحتوية على مواد ذائبة أو مخترلة . ولما كان لهذه البكتيريا القدرة على تحويل مركبات الحديد الذائبة والمختزنة إلى مركبات حديدية غير ذائبة فإن أفراد هذا الجنس تعرف ببكتيريا الحديد .



شكل ١٣٩ : رسم تخطيطي يبين خلايا من جنس Gallionella لا حظ الأعناق (stalks) والتي تظهر كشرائط ملتوية حول بعضها تمتد من المنطقة المقعرة من الخلية . الشرائط مشبعة بايدروكسيد الحديد .

### الجزء الخامس : الاسبيروكتيات

#### The Spirochetes

#### الرتبة : الاسبيروكتيات Order Spirochaetales

أفراد هذه الرتبة ذات خلايا مرنة كبيرة يتراوح طولها بين ٦ - ٥٠٠ ميكرون . ذات مظهر حلزوني يحتوي في الأقل على انثناء واحدة كاملة . بعض الأفراد يظهر بروتوبلازمها متجانسا أو قد يترتب بطريقة خاصة تظهر الخلايا وكأنها ملتفة بواسطة خيط محوري axial filament ، أو ذات زوائد جانبية lateral crista أو ذات ارتفاعات ضيقة ridges أو ذات تخطيطات



عرضية . الأنواع الصغيرة الحجم منها تكون قدرتها على كسر الضوء أقل كثيرا من البكتيريات الحقيقية ، لذلك فلا يمكن رؤيتها إلا باستعمال المجهر ذى الحقل المظلم . بعض أفراد هذه العائلة تصطبغ بصعوبة بالصبغات الانيلية . إلا أنها تصطبغ بسهولة وبانتظام باستعمال صبغة الحيمسا Gieimsa . بعض الأنواع تحتوى على الحبيبات granules . كل أفراد هذه الرتبة متحركة بالرغم من عدم امتلاكها للأسواط . وأحيانا قد تظهر زوائد طرفية قد تكون ناتجة عن الطبقات الخارجية من الخلية أو من الحيط المحورى axial filament والتي قد تفسر خطأ على أنها أسواط أو أعضاء أخرى للحركة ويقال أن الزوائد الجانبية lateral crest التي تحملها بعض الأفراد قد تساعد في حركة هذه البكتيريات غير أن هذه التركيبات جميعاً لا يمكن عن طريقها تفسير الحركة القوية لهذه البكتيريات . وحركة هذه البكتيريات كما سبق أن بينا تتضمن التفاف الخلية حول محورها الطولى ، وهذه تؤدي إلى تحرك الخلايا إلى الأمام أو إلى الخلف كما أن تموجات جسم الخلية المرنة نفسها وانفرادها يؤدي إلى تحركها أيضاً . تكاثرها يتم عن طريق الانفلاق العرضى . غالبية أفرادها رميات .

وتشمل هذه الرتبة عائلة هي Spirochaetaceae ويتبعها عدد من الأجناس

#### جنس — spirochaeta

لا يشاهد على خلايا أنواعه غشاء بير بلاستى periplast membrane كما لا يشاهد عليها تخطيطات عرضية . ذات أطراف مستديرة أو مدببة . يلتف البروتوبلاست حول خيط محورى مميز . تتحرك الخلايا حركة زحفية . تعيش أفرادها في المياه العذبة والمالحة وبخاصة في وجود (يدى كب) تتواجد باستمرار في مياه المجارى .

#### جنس — Cristospira

الخلايا مرنة تظهر بشكل حلزوني طویل ٢٨ — ١٢٠  $\mu$  يتميز بوجود crista

أو غشاء رقيق يبرز في مناطق مختلفة من جسم الخلية وممتدا بطول الخلية ذات التخطيطات العرضية (شكل ١٤٠). تتحرك بسرعة. تتواجد بكثرة في القنوات الخضمية للقواقع.



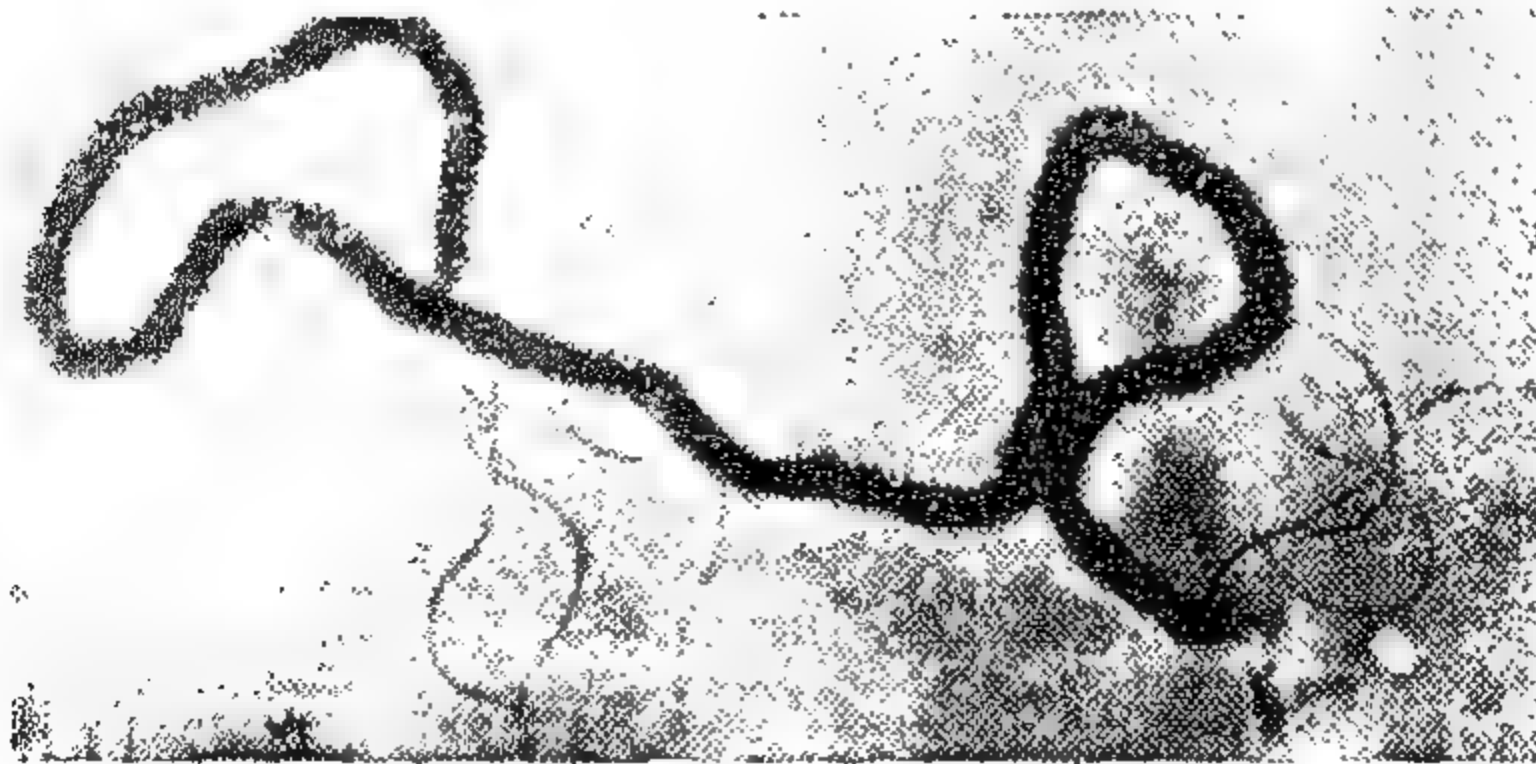
جنس - *Barrelia*

أنواع هذا الجنس سهل صبغها بصبغات الأنيلين. يتراوح طول خلاياها بين ٨-١٦ ميكرون. حلزونات غير منتظمة ذات نهايات مدببة تنهى بخيوط رفيعة (ليست أسواط) ومن أنواعها *Borrellia recurrentis* المسببة لمرض الحمى الراجعة *relapsing fever* في الإنسان كما أن هناك أنواعا أخرى تصيب الإنسان والحيوان والطيور.

شكل ١٤٠ : صورة ميكروسكوبية لخلية من البكتيريا *Cristospira balbiani* تبين الخزمة الحلزونية من الأسواط أو ما يعرف بالقشور *Crista* التي تبرز في مناطق مختلفة من جسم الخلية.

جنس - *Treponema*

أنواع هذا الجنس يتراوح طول خلاياها بين ٣ - ١٨ ميكرون

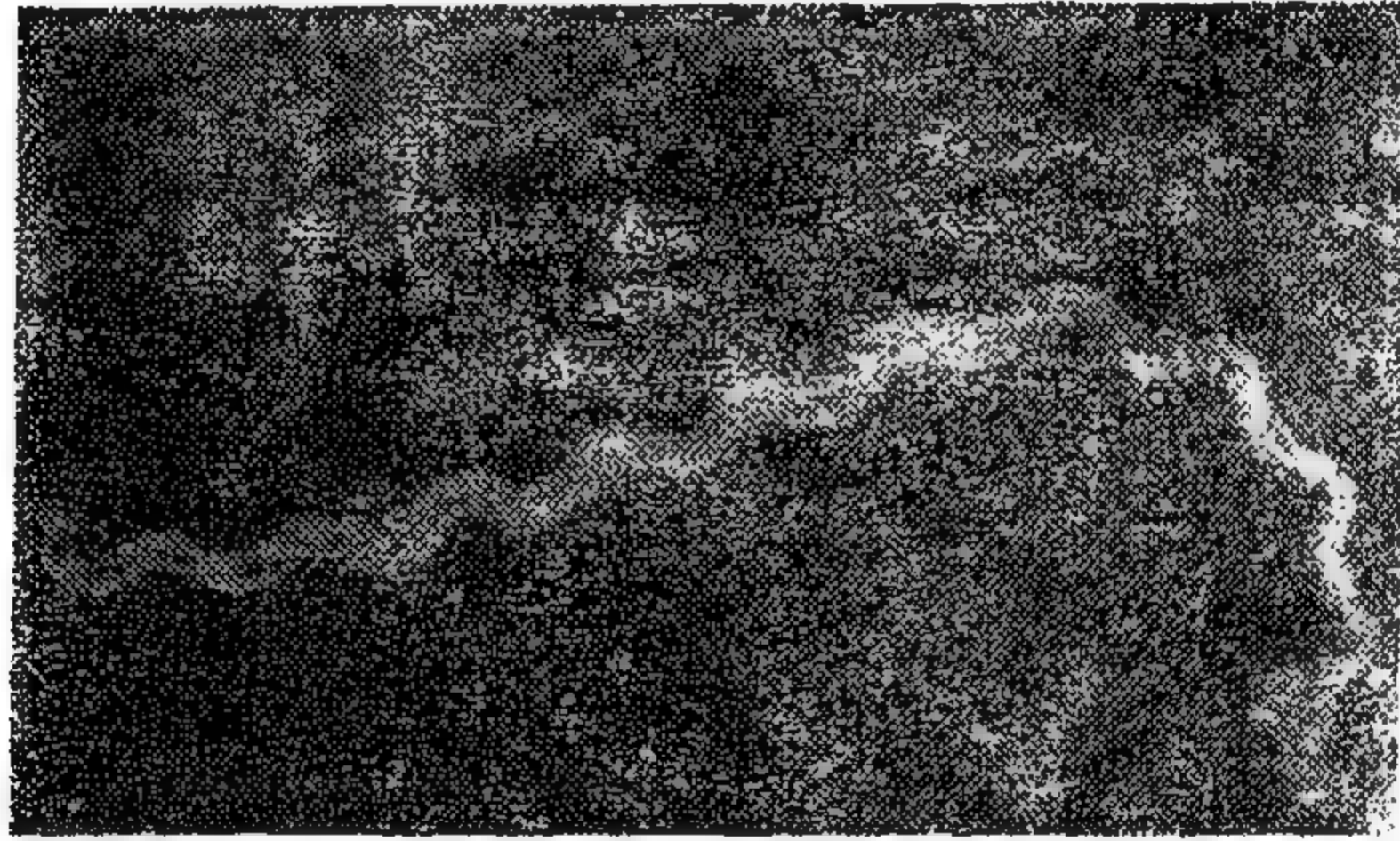


شكل ١٤١ : صورة ميكروسكوبية لأحد خلايا البكتيريا *Treponema pallidum* تبين انفراد بعض الخيوط التي كانت ملتفة حول جسم الخلية التي ليست أسواط كما يعتقد البعض -- لاحظ مقياس الرسم.

( شكل ١٤١ ) وتظهر بشكل حلزونات منتظمة . لا يمكن صبغها بالطرق الاصطباغية العادية . بكتيريات هوائية . النوع المثالي *Treponema Pallidum* المسبب لمرض الزهري Syphilis في الانسان . ومن الأنواع الأخرى ما هو ممرض أيضاً للانسان والحيوان .

جنس — *Leptosipira*

أنواعه ذات خلايا قصيرة نسبياً أقصر من تلك التابعة للأجناس الأخرى (شكل ١٤٢) ولكن ليس ذلك في حد ذاته وسيلة من وسائل التمييز بينها وقد لوحظ أنه عقب الصبغ تظهر أنواع هذا الجنس بحالة تشبه أفراد جنس *Treponema* ولكنها تتميز بكونها هوائية . بعض أنواع هذا الجنس طفيلية والبعض الآخر رمية .



شكل ١٤٢ : صورة الكروميكروسكوبية لأحد خلايا البكتيريا *Leptosipira canicola* تبين وجود نوعين من الخيوط filaments أحدهما محوري يلتف جسم الخلية حوله ، والآخر موازياً لمحور الخلية ( بمعنى أنه يلتف مع انثناءات الخلية ) .

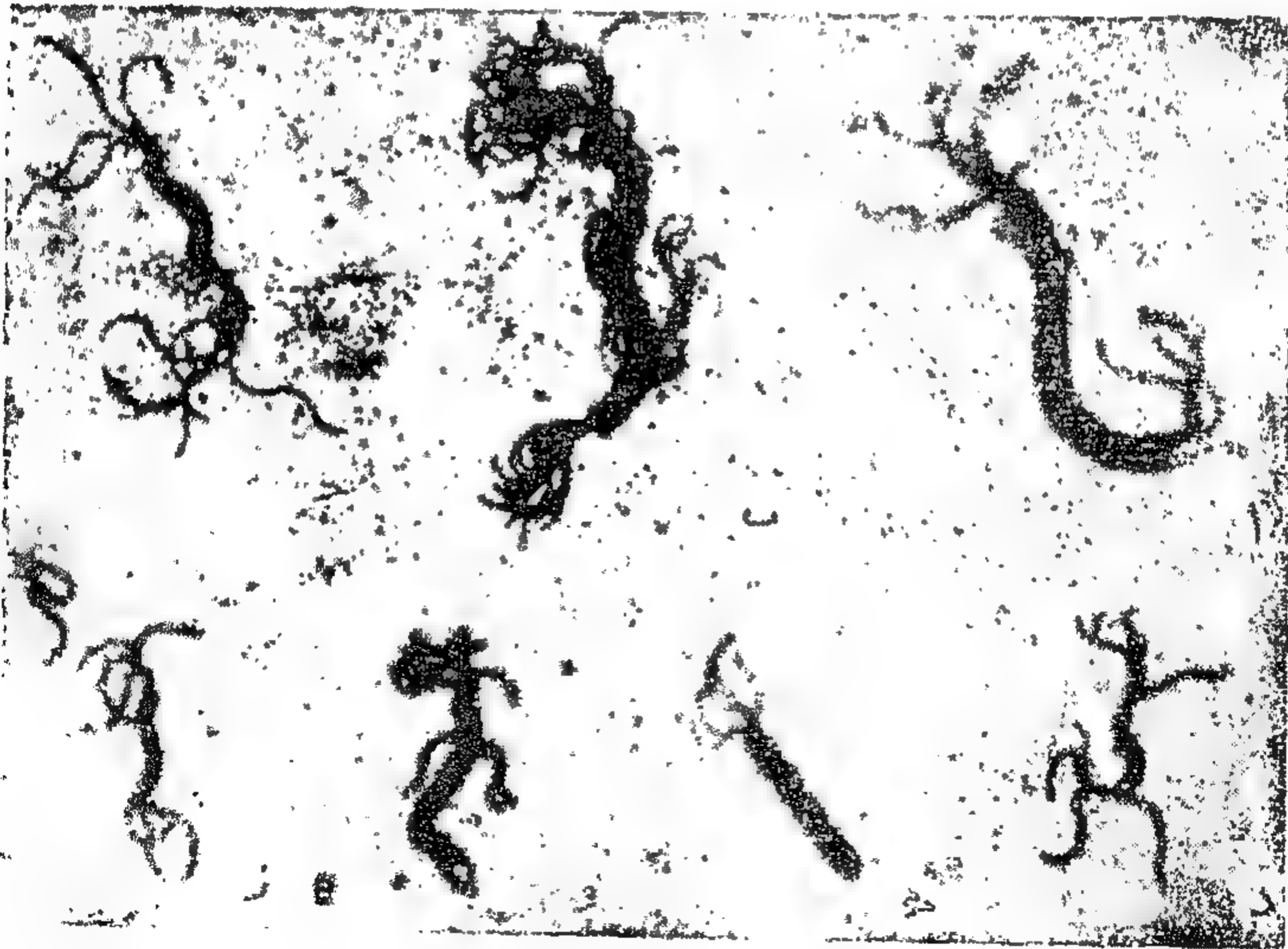
### الجزء السادس

البكتيريا المنحنية والحلزونية Spiral and Curved bacteria

العائلة Spirillaceae

عصويات صلبة منحنية حلزونية مع وجود أقل من لفة كاملة إلى عدد

من اللفات. قطر الخلية ١,٧-٢  $\mu\text{m}$  وطول الحلزون ٥-٦٠  $\mu\text{m}$  متحركة  
تعم في خطوط مستقيمة مع وجود حركة مميزة تشبه ثاقب الفلين. قد  
تمتلك سوط واحد طرفي أو خصلة من أسواط طرفية. الأسواط قد تكون  
عند طرف واحد أو كلا الطرفين. بعض الأنواع هوائية إجباراً أو تتطلب  
ضغط منخفض من الأكسجين ويشترط توفر الأكسجين كمستقبل نهائي  
للإلكترونات. توجد أنواع غير هوائية ولكنها تنمو تحت ظروف من نقص  
الأكسجين. التغذية Chemoorganotrophs. غير قادرة على تخمير  
الكربوهيدرات ولو أن عددا قليل من الأنواع تستطيع أكسدة عدد محدود  
منها. موجبة للأوكسجين. سالبة للإندول. بعض الأنواع تستطيع إنتاج  
صبغة خضراء مصفرة ذائبة في الماء فلوريسنتية. بعض الأنواع تستطيع  
النمو في بيئة بسيطة بها أملاح معدنية ومصدر واحد كربوني وكبريتات  
أمونيوم والبعض الآخر تحتاج إلى بيئة معقدة.



شكل ١٤٣ : لوحة تبين بعض الخلايا التابعة لجنس *Spirillum* (أ) *Spirillum* -  
*Spirillum itersonii* (ب) *Spirillum* sp. (ج، د) *Spirillum* (هـ، و) *Spirillum*  
*virgimianum* عصويات منحنية قليلاً. (ز) *Spirillum* sp معزول من المياه المذبة.



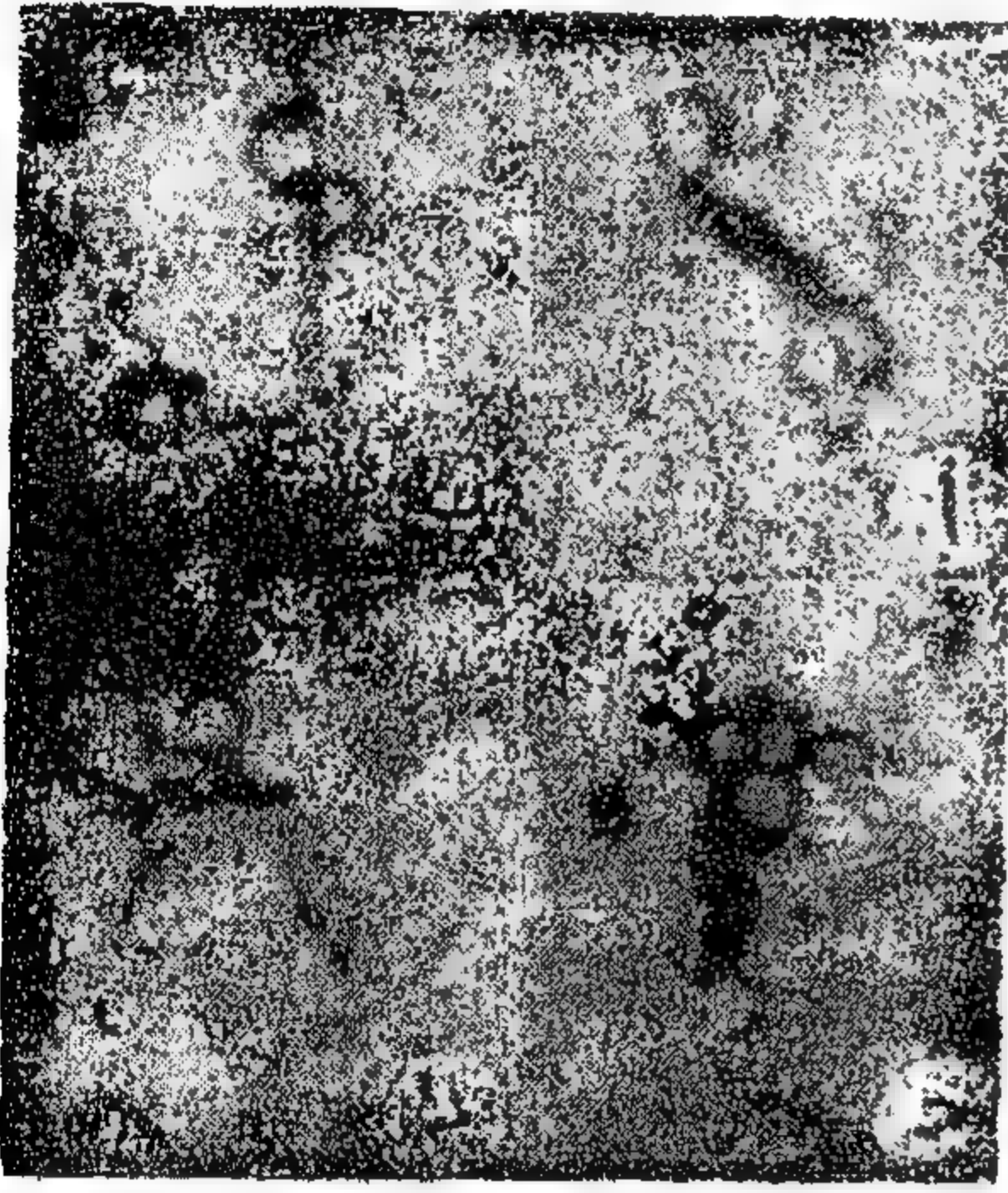
بعضها تعيش معيشة حرة في الماء أو في البيئات البحرية والبعض الآخر متطفلات أو مترمات وبعضها ممرض . وتشتمل هذه العائلة على جنسين وهما الجنس *Spirillum* (شكل ١٤٣) والجنس *Campylobacter*

### الجزء السابع

البكتيريا العصوية أو الكروية الهوائية والسالبة لصبغة جرام  
Gram - Negative Aerobic Rods and Cocci

### العائلة الأولى

*pseudomonadaceae*



تشمل هذه العائلة مجموعة كبيرة من الأجناس ذات الخلايا الفردية القريبة الشبه بالبكتيريات الحقيقية. وتتميز أفراد هذه العائلة بما يلي من صفات : عصويات متوسطة الطول سالبة لصبغة جرام ، متحركة عن طريق الأسواط الطرفية (بعضها قد يمتلك سوطا واحدا أو خصلة من الأسواط الطرفية) ، هوائية ، غير متجذمة ، غير ذاتية التغذية (تنمو جميعها جيدا على سطح البيئات البسيطة مثل الآجار المغذى). تهاجم أفراد هذه العائلة مجموعة مختلفة من المركبات العضوية بطريقة تأكسدية . كثير من الأنواع تتميز بافرازها صبغات تذوب أو لا تذوب في الماء. بعضها يسبب أمراضا للنبات. تنتشر أفراد هذه العائلة بدرجة واسعة بالطبيعة

شكل ١٤٤ : لوحة لحلايا بعض البكتيريات التابعة لجنس *Pseudomonas* والمسببة لأمراض نباتية (أ) *Pseudomonas angulatum* المسبب للتبقع الزاوي لأوراق الدخان لاحظ وجود عدة أسواط على كلا الطرفين lophotrichous (ب) *Ps. savastanoi* var *fraxini* المسبب لتعقد أفرع الزيتون . عدة أسواط على كلا الطرفين . (ج) *Ps. glycinea* الممرض لنباتات فول الصويا . عدة أسواط طرفية (د) *Ps. marginalis* المسبب لتبقع حواف أوراق الخس .



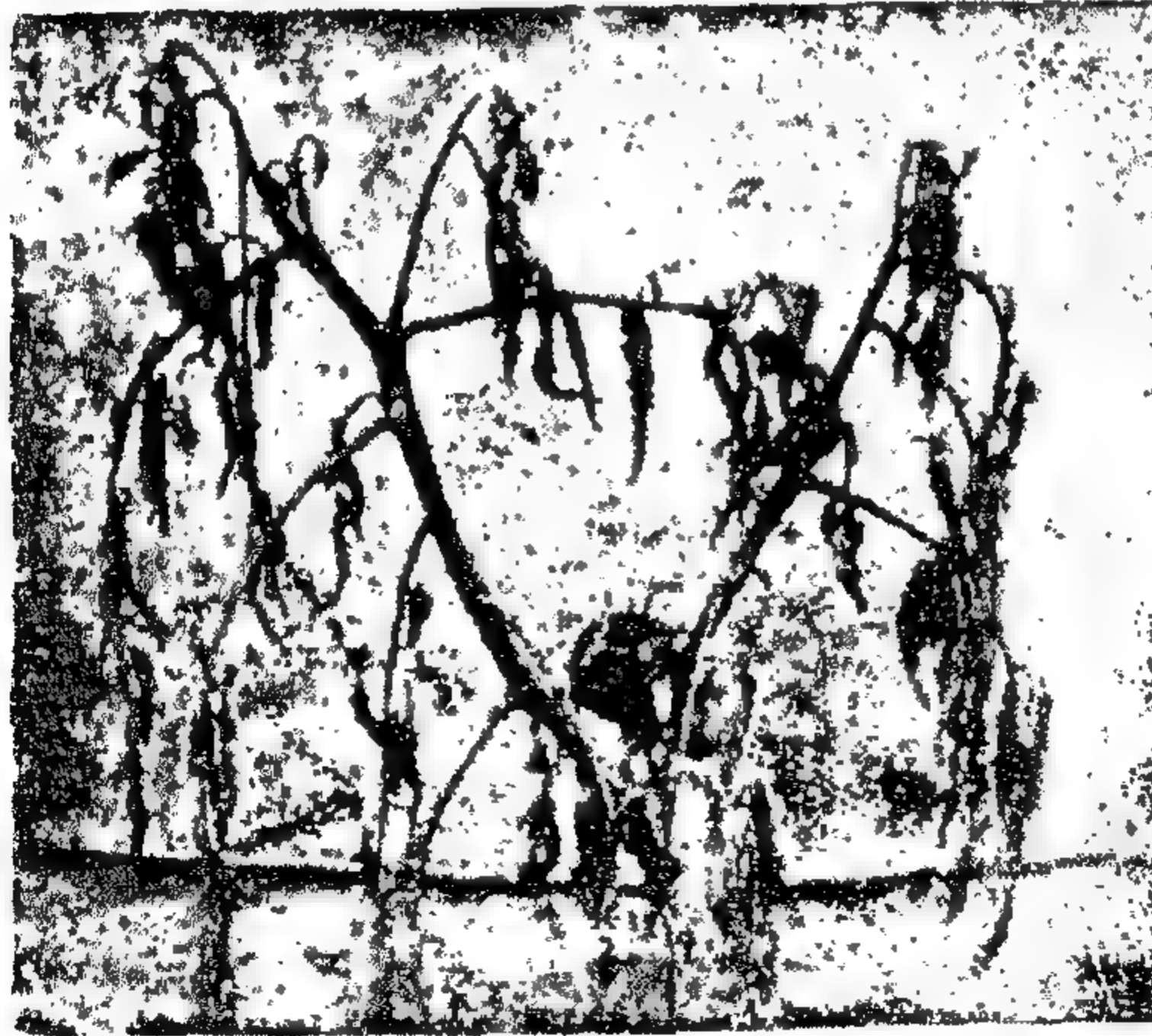
فهي تتواجد بالتربة أو بالمياه. وأهم الأجناس هي *Pseudomonas* و *Xanthomonas* وفيما يلي وصف تفصيلي لهذه الأجناس :

جنس — *Pseudomonas* :

وتعرف البكتيريا التابعة لهذا الجنس باسم *Pseudomonas* (شكل ١٤٤) يمكنها أن تنتج صبغة قابلة للذوبان في الماء تتركب من واحد أو أكثر من الصبغات التالية :

صبغة البايوسيانين Pyocyanin وهي ذات لون أزرق مخضر .  
صبغة البايوروبين pyorubin وهي ذات لون أحمر .  
صبغة الفلوروسين fluorescein صبغة فلورسنتية ذات لون أصفر مخضر .

فعند تنمية البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* على بيئة الآجار المغذي يلاحظ دائماً تلون البيئة بلون أزرق مخضر . كما تشاهد درجات مختلفة الألوان عند تنمية الأنواع أو السلالات الأخرى تبعاً لنوع الصبغة التي تنتجها ، فمثلاً

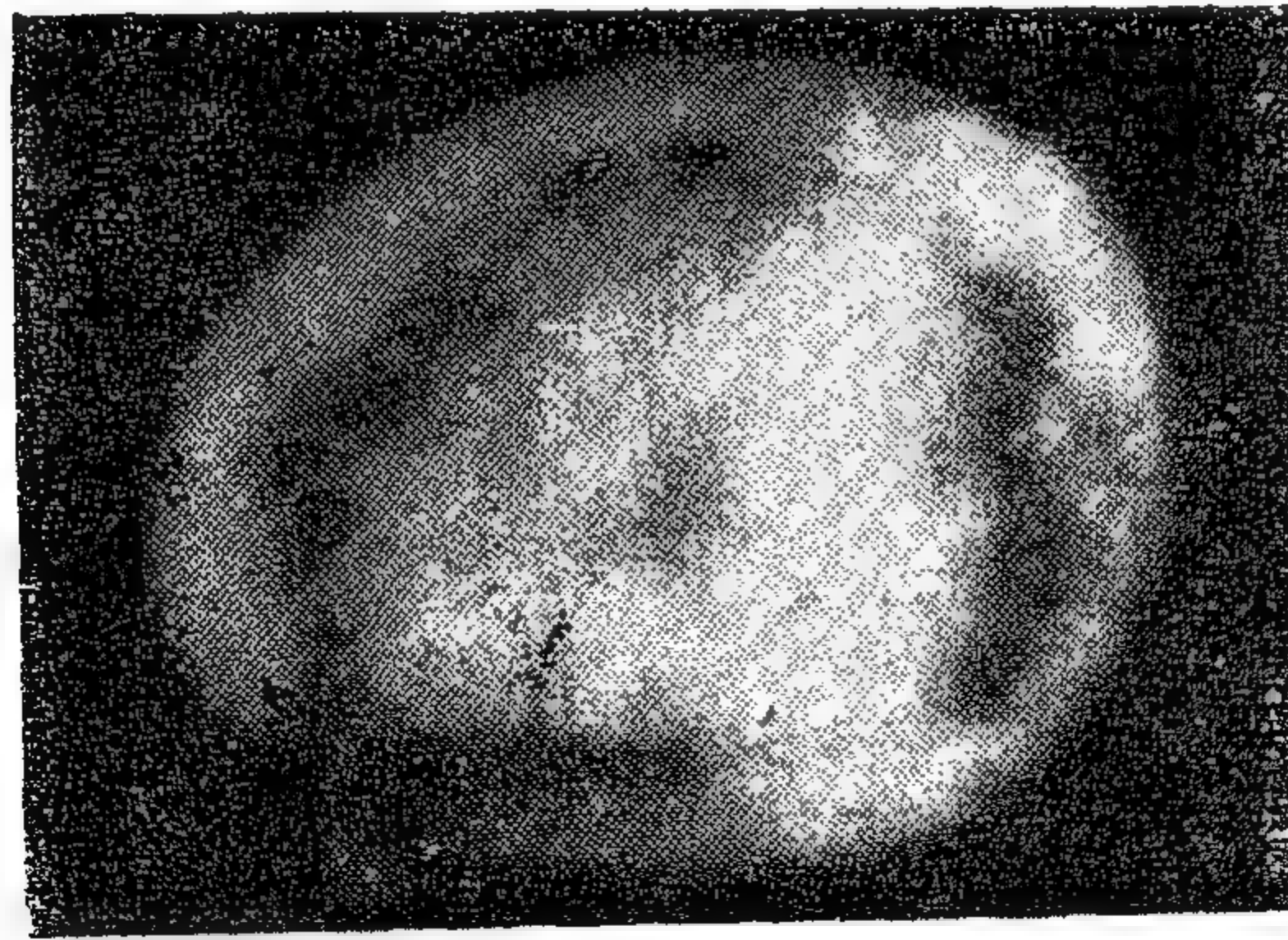


شكل ١٤٥ : نبات طماطم تظهر عليه أعراض الذبول نتيجة لأصابته بالبكتيريا

*Pseudomonas solanacearum*

البكتيريا *Pseudomonas fluorescens* تتميز بانتاجها للصبغة الخضراء ،  
المصفرة الفلورسنتية وفي كونه لايفرز صبغة pyocyanin الحمراء . هذا  
ويختلف النشاط الأيضي لأفراد هذا الجنس اختلافا كبيرا . ففي حين أن  
الكثير من أنواع هذا الجنس ذو قدرة على تحليل البروتينات فاننا نجد البعض  
الآخر يختزل النترات إلى نيتريت nitrite ثم إلى أمونيا (عملية اختزال ،  
النترات) فاننا نجد أن البعض الآخر يمكنه أن يختزلها مباشرة إلى غاز النيتروجين  
(عملية عكس التآزت) . وغالبية أنواع هذا الجنس تؤكسد الجلوكوز إلى  
حمض جلوكونيك ثم إلى حمض ٢ - كيتوجلوكونيك وبعض المركبات  
الوسطية الأخرى كما أن لها القدرة أيضاً على مهاجمة كثير من المواد الكيماوية  
التي لا تقدر على مهاجمتها البكتيريات الأخرى . عديد من أنواع الجنس ،  
ممرض للنباتات مثل *Pseudomonas solanacearum* المسبب ،  
لمرض الذبول في النباتات الباذنجانية أو مرض التعفن البني في البطاطس  
(شكل ١٤٦) *pseudomonas savastanoi* المسبب لتعقد أفرع الزيتون .

هذا والبكتيريا *Pseu.aeruginosa* قد تصيب الانسان ولها أهمية كبرى  
في تلويث الجروح والحروق .



شكل ١٤٦ : قطاع في درنة بطاطس مصابة بالتعفن البني .

لا حظ الافرارات البكتيرية في منطقة الأسطوانة الوعائية .



شكل ١٤٧ : لوحة لخلايا بعض البكتيريا التابعة لجنس *Xanthomonas* والمسببة لأمراض نباتية . لاحظ أنها جميعاً ذات أسواط مفردة طرفية (أ) *X. compestris* (ب) خلايا من نفس البكتيريا تبين إمكان تواجدها أكثر من سوط واحد عند نفس الطرف. (ج) *X. amaranthicola* (د) *X. popovericola* (هـ) *X. manthotis* (و) *X. vignicola* (ز) *X. recinicola* (ح) *X. rubilneans* (ط) *X. zinniae*

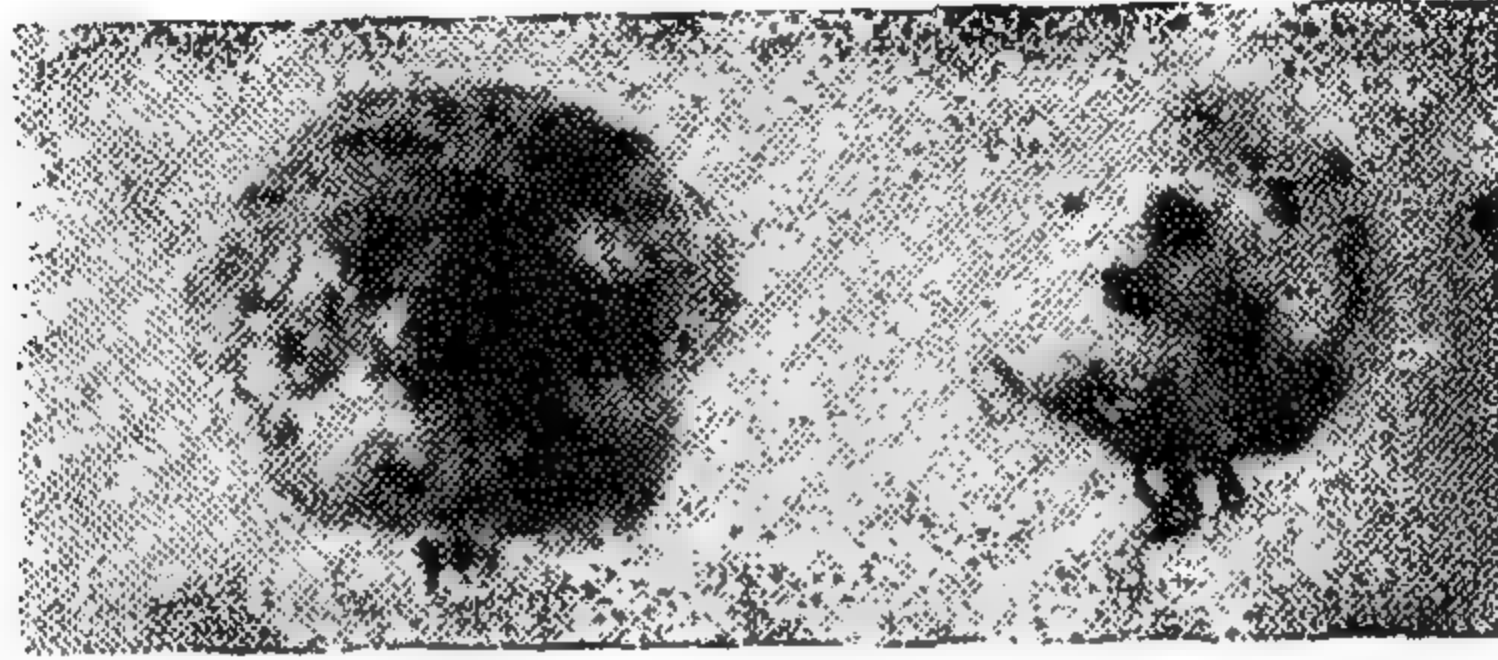
#### جنس — *Xanthomonas*

يشمل هذا الجنس ستين نوعاً ، وتتميز أفراده باحتواء خلاياها على سوط واحد طرفي *monotrichous* (شكل ١٤٧) وفيما عدا ذلك فاتها تشابه كثيراً أنواع الجنس السابق . كما تختلف عنها في قدرتها على افراز صبغة صفراء ليس لها القدرة على الانتشار في البيئة لعدم قابليتها للدوبان في الماء



فتبدو الصبغة محصورة في مستعمراتها التي تظهر باللون الأصفر بدرجاته ،  
المختلفة . وتعتبر أفراد هذا الجنس أقل في نشاطها الأيضي من أنواع الجنس  
السابق . معظم أفرادها تسبب أمراضا نباتية تبقيعية مثل :

*Xanthomonas malvacearum* المسبب للتبقع الزاوي واللفحة البكتيرية للقطن ،  
*Xanthomonas vesicatoria* المسبب لتبقع أوراق وثمار الطماطم (شكل ١٤٨).

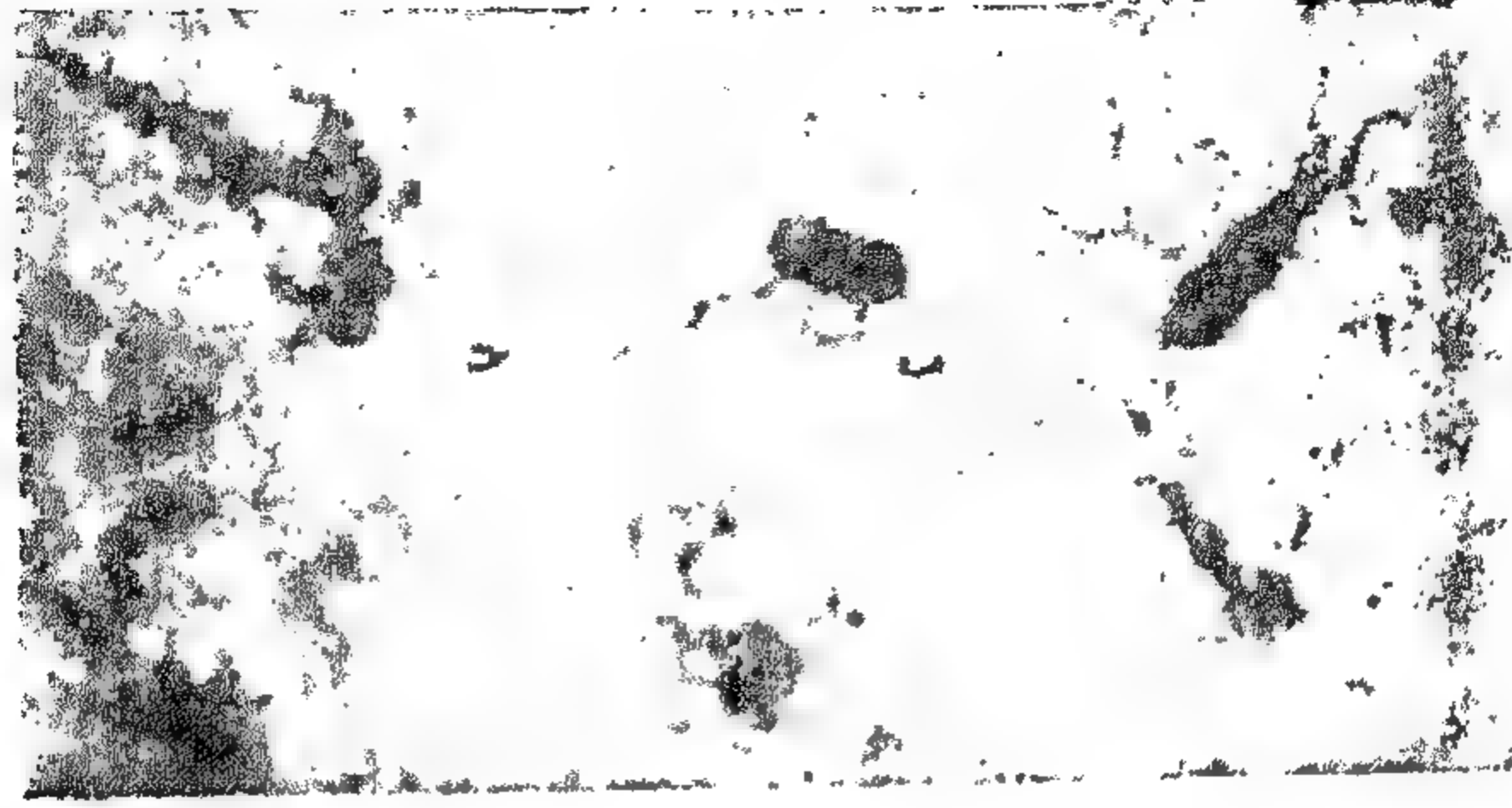


شكل ١٤٨ : ثمار طماطم يظهر عليها أمراض التبقع البكتيري نتيجة لاصابتها  
بالبكتيريا *X. vesicatoria*

#### العائلة الثانية Azotobacteraceae

أفراد هذه العائلة ذات خلايا تتراوح في مظهرها بين العصوية القصيرة  
والبيضية الكبيرة نسبيا . يمكن لأفرادها القيام بتثبيت الآزوت الجوى إذا  
توافرت الكربوايدرات كمصدر للطاقة . تعيش معيشة حرة بالتربة هوائية  
اجبارا ، متحركة ذات أسواط جسمية ، تنمو جيدا في البيئات الخالية من  
مصدر الآزوت . والجنس الوحيد الذى تشمله هذه العائلة هو جنس *Azotobacter*  
الذى يتبعه أربعة أنواع هامة *Azotobacter chroococcum* و *A. agilis* و  
*A. vinelandii* و *A. indusum* (شكل ١٤٩) .

وتتميز أنواع هذا الجنس بخلاياها الكبيرة نسبيا والتي تشبه في مظهرها  
إلى حد ما خلايا الخميرة . وينطبق عليها كل الصفات السابق ذكرها في  
وصف العائلة . تنمو أفراد هذا الجنس على البيئات الغذائية مكونة غشاء pelicle  
على سطح البيئة السائلة . تعيش في التربة وفي المياه العذبة .



شكل ١٤٩ : لوحة لخلايا البكتيريا *Azotobacter* (أ، ب) *Azotobacter chroococcum* أسواط جسمية ذات موجات طفيفة طول الموجة ٧، ٢ ميكرون . (ج) خلايا من نفس البكتيريا ذات أسواط أكثر انحناءاً طول الموجة ٢، ١ ميكرون (د) *A. vinelandii* أسواط جسمية ذات موجات طفيفة (هـ) *A. argilis* أسواط جسمية شبه ملتصقة طول الموجة ٢ و ٣ ميكرون. (و) *A. indicum* أسواط جسمية ذات موجات قصيرة .

#### العائلة الثالثة Family Rhizobiaceae

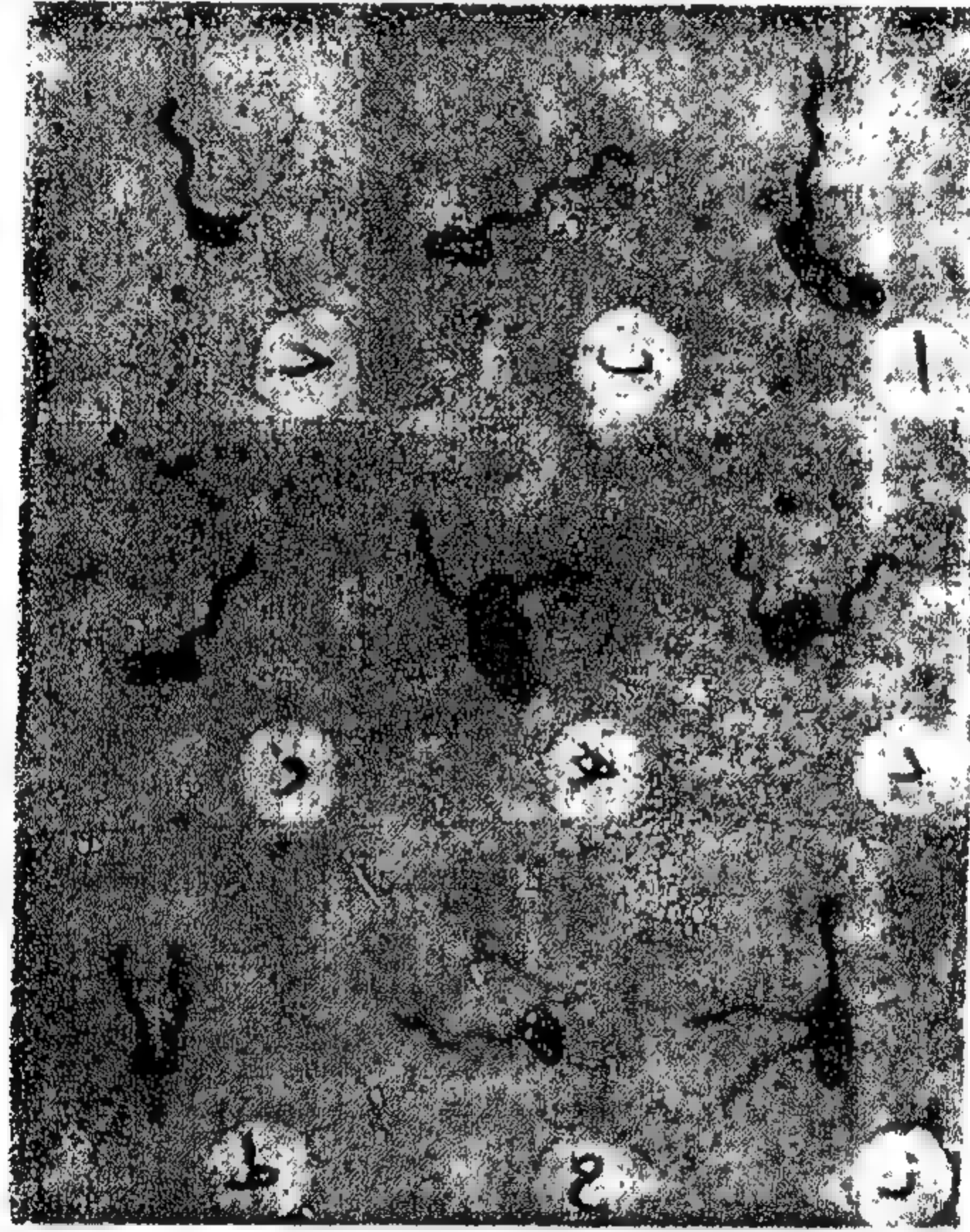
تشمل افراد ذات خلايا عصوية تظهر بعض الاختلافات المورفولوجية (pleomorphic forms) ، غير متحركة بواسطة اسواط طرفية أو تحت طرفية subpolar (شكل ١٥٠) . وفي حالات نادرة قد تشاهد على بعض ، أفرادها عدد يتراوح بين ٢ — ٤ أسواط جسمية (جانبية) . سالبة الجرام غير متجرتمة . غير ذاتية التغذية . تهاجم الجلو كوز أو السكريات الأخرى بدون انتاج احماض ذات قدرة على تثبيت الآزوت الجوى عندما تعيش معيشة تبادل منفعة أو معيشة تكافلية مع جذور البقوليات محدثة عقدا مميزة على جذورها (شكل ١٥١) . بعض الأجناس تصيب النباتات مسببة لها تورمات مرضية ولا تقوم بتثبيت الآزوت الجوى . وتشمل هذه العائلة ثلاثة أجناس هامة :

#### جنس — *Rhizobium*

ويعرف منه ستة أنواع من أهمها *Rhizobium leguminosarum* وهو

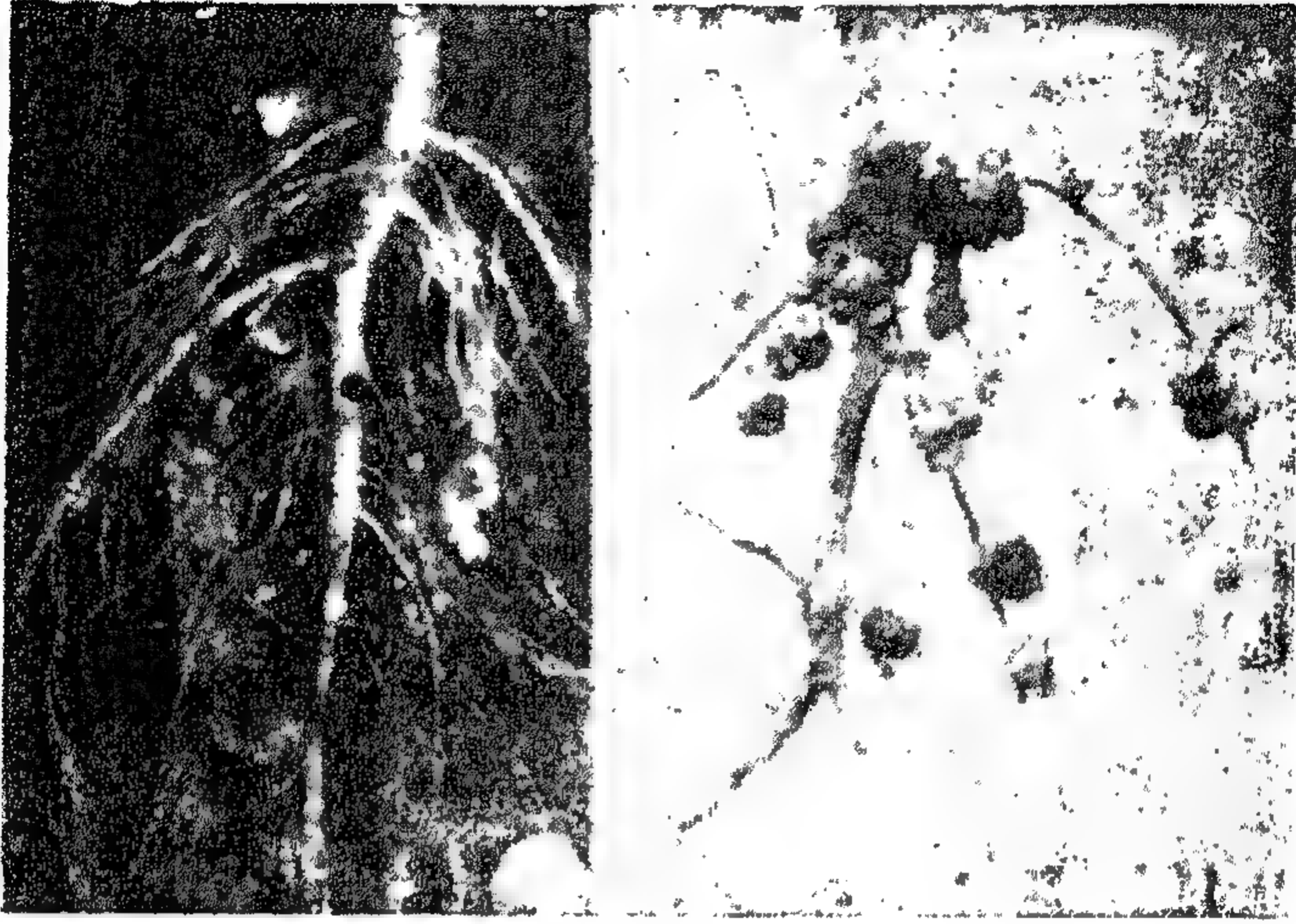


النوع المثالي للجنس ويتميز افراده بأنها عصويات تتراوح قياساتها بين ٥,٥ — ٩,٢ × ١ — ٣ ميكرون تكون متحركة وهي حديثة السن إلا أنها تتوقف عن الحركة وتتخذ اشكالا غير ثابتة Bacteroides عندما تنمو في بيئات صناعية محتوية على مواد قلوية alkaloides أو جلوكوسيدات glucosides كما تشاهد الخلايا بنفس المظهر عندما تكون نامية في جذور النباتات البقولية. تنمو جيدا على البيئات الغذائية المحتوية على مستخلص الشعير أو مستخلص أو



شكل ١٥٠ : لوحة لخلايا سلالات تابعة لجنس *Rhizobium*

- (أ) عزل من النبات البقولى *Phaseolus aureus* سوط واحد تحت طرفى
- (ب) عزل من النبات البقولى *Lantus* » سوط واحد تحت طرفى
- (ج) عزل من النبات البقولى *Vigna sinensis* وسوط واحد تحت طرفى
- (د) عزل من النبات البقولى *Phaseolus vulgaris* أسواط جسمية
- (هـ) عزل من النبات البقولى *Phaseolus vulgaris* سوطان احدهما موج والاخر مستقيم
- (و) عزل من النبات البقولى *Phaseolus acontifolius* سوط واحد تحت طرفى
- (ز) عزل من النبات البقولى *Meliloru Salba* أسواط جسمية
- (ح) عزل من النبات البقولى *Lupinus densiflorus* أسواط جسمية
- (ط) عزل من النبات البقولى *Glycina hispida* سوطان مجعدان (تسوط غير عادى)



شكل ١٥١ : جذور نباتات بقولية تظهر عليها العقدة الجذرية  
(أ) جذور نباتات لوبيا . (ب) جذور نبات برسيم حجازي .

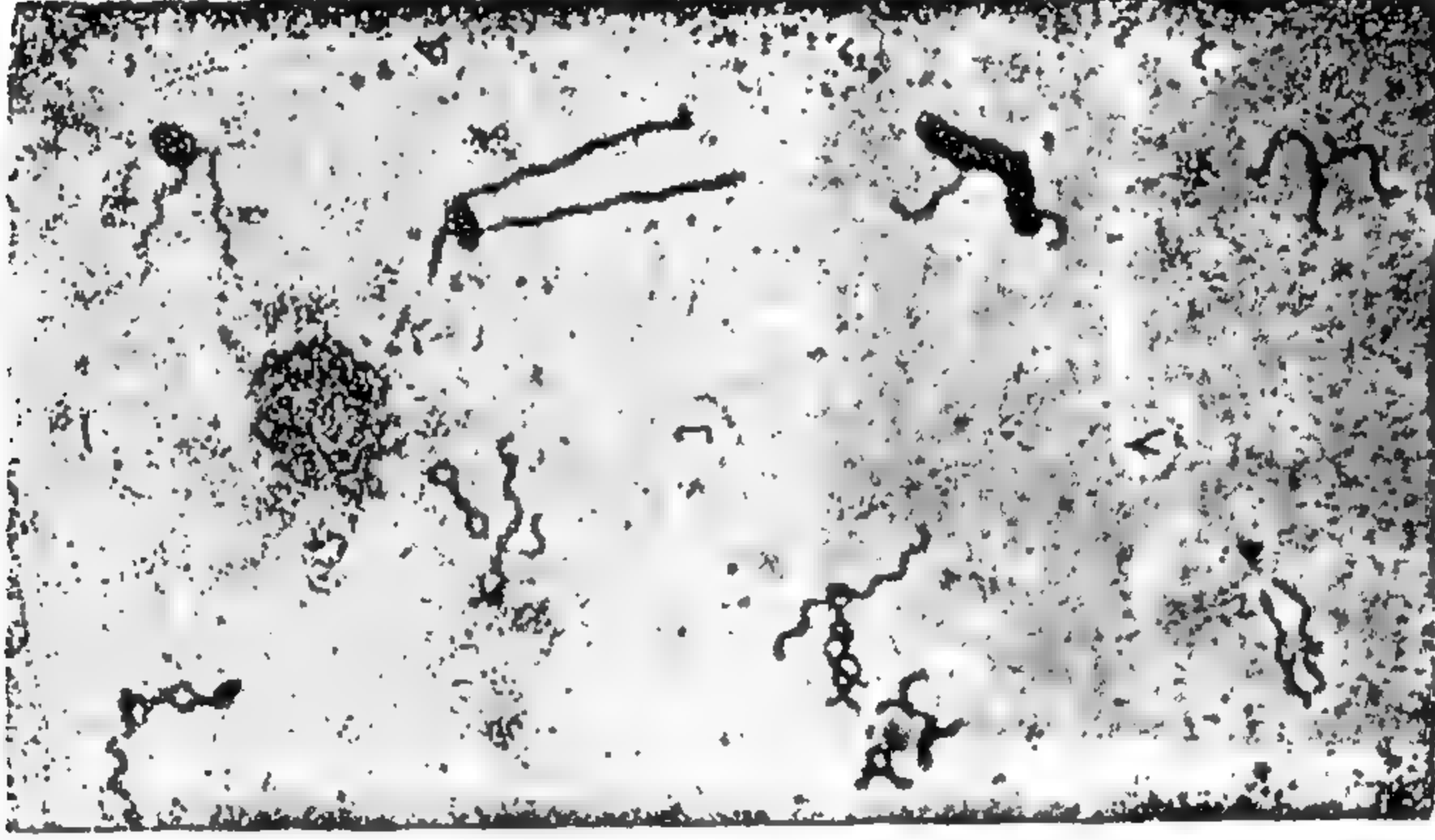
المستخلصات النباتية الأخرى . يمكنها اختزال النترات إلى نيتريت . لاتسيل الجيلاتين ، تفضل درجة ٢٥°م كدرجة حرارة مثالية للنمو . تصيب جذور النباتات البقولية مكونة عقدا جذرية ( شكل ١٥١ ) وتقوم بتثبيت الآزوت الجوى .

#### جنس — *Agrobacterium*

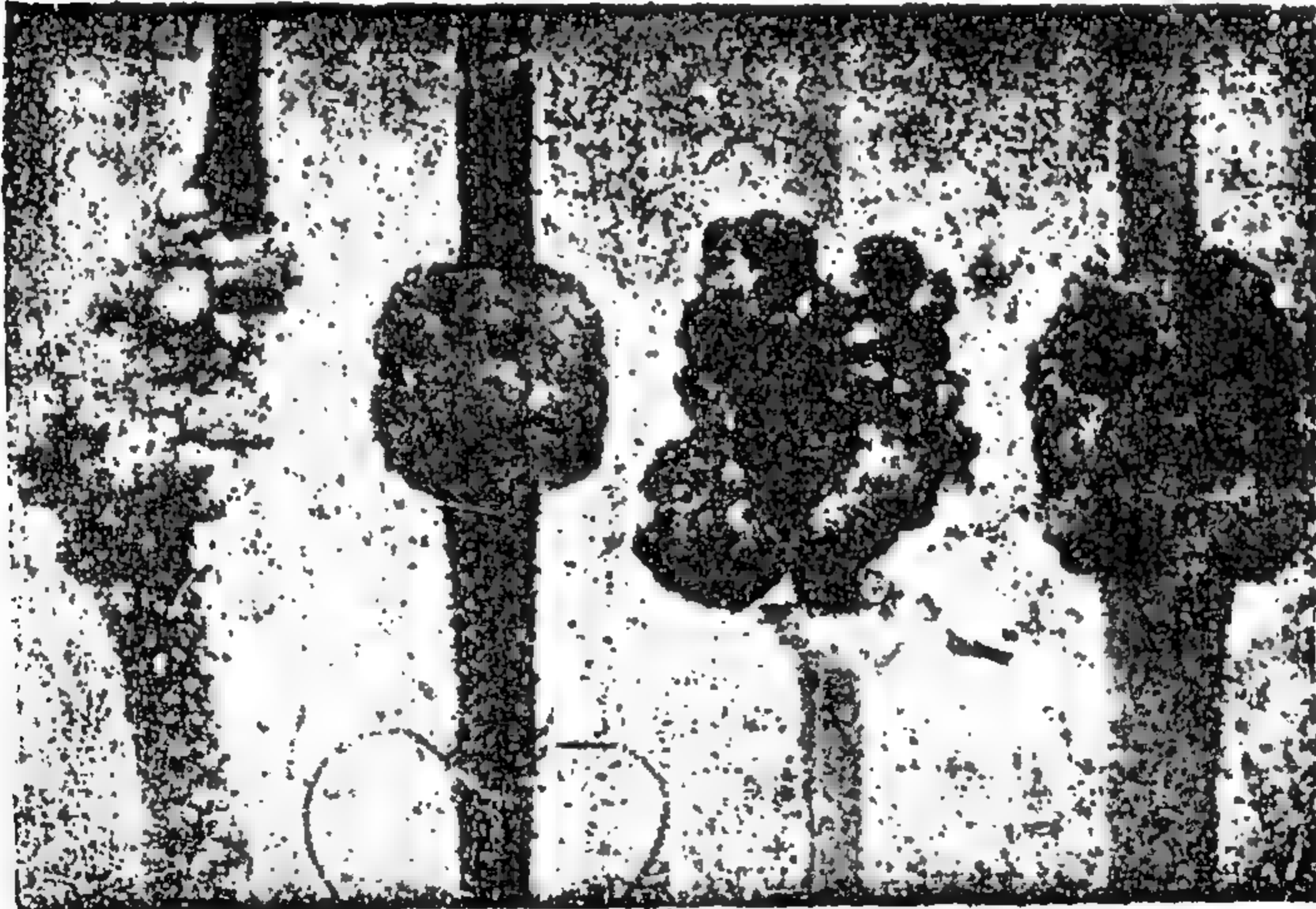
تتميز أنواعه بخلايا عضوية قصيرة . متحركة عن طريق ١ — ٤ أسواط جسمية (شكل ١٥٢) . سائلة لصبغة جرام ، عندما تنمو على بيئات عضوية محتوية على سكريات لاتكون أحماضا ولاغازات . عندما تنمو على بيئات تركييبية (غير عضوية) في وجود السكريات قد تكون غازات وأحماض . ليس لها قدرة على تحليل البروتينيات (لاتسيل الجيلاتين) لاتثبت الآزوت الجوى . تستعمل النترات أو الأمونيا كمصدر للأزوت . تتراوح درجة حرارتها المثالية للنمو بين ٢٥ — ٣٠°م . تعيش بالتربة أو على جذور النباتات .



بعض الأنواع تسبب اعراضاً مرضية مميزة تظهر بشكل تورمات أو انتفاخات كبيرة (شكل ١٥٣) (مثل النوع *Agrobacterium tumefaciens* أو تصيب الجذور مسببة زيادة في تكوين الجذور العرضية الليلية مثل النوع *Agro. rhizogenes* وهناك أنواع خمس أخرى غير ممرضة للنباتات ولكنها تعيش بالتربة معيشة ترممية .



شكل ١٥٢ : لوحة تبين خلايا أنواع الجنس *Agrobacterium* (أ، ب، ج، د) *Agro. tumefaciens* (ج) *Agro. rhizogenes* أسواط جسمية أقصر منها في النوع السابق (د) *Agro. racidicola* (هـ، و) *Agro. pseudstuga* أسواط قليلة ذات موجات طويلة نسبياً (ز) *Agrobacterium sp.*



شكل ١٥٣ : سوق بعض النباتات تكونت عليها تورمات مرضية نتيجة لعدواها صناعياً بالبكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*

#### العائلة الرابعة Family Halobacteriaceae

عصويات أو كرويات تحتاج إلى تركيز عالٍ من كلوريد الصوديوم لكي تنمو . النكاث من طريق الانفلاق العرضي . لا توجد جراثيم داخلية . الجدار الخلوي لا يحتوي على diaminopimelic acid أو البـ muramic acid ومعظم الجدار من بروتين ودهون lipoprotein . سالبة الجرام . التغذية Chemoorganotrophic الميثانوليزم تنفسى ولا يكون تخمري . تحصل على الطاقة من الأحماض الأمينية . المعلومات قليلة عن إستعمال الكربوهيدرات . تحتوي على كاروتينات وأساسا terioruberin . المستعمرات ذات ألوان مختلفة ، حمراء أو وردية أو برتقالية محمرة توجد عند توفر ص كل وغيرها من الأيونات اللازمة في تركيزات مناسبة . مثل الملاحات والبحيرات المالحة والمملحات مثل السمك واللحوم المملحة ويتبعها جنسين هما *Halobacterium* و *Halococcus*

وتوجد بعض الأجناس التي لم تحدد بعد درجة قرابتها إلى أحد العائلات تنتمي إلى الجزء السابع مثل الأجناس *Alcaligenes* و *Brucella* و *Acetobacter*

#### جنس — *Alcaligenes*

أنواعه تتميز بإنتاج مواد ملونة تتراوح بين البنى المصفر والرمادى المائل إلى الاصفرار . تختزل لبن عباد الشمس litmus milk محدثة تأثيرا قلويا (لونا أزرق) . لا تستعمل السكريات كمصدر للطاقة لا تكون أحماضا ولا تسيل الجيلاتين . أهم أنواعه *Alcaligenes faecalis* الذى يتواجد فى القنوات الهضمية للفقرات ويوجد ملوثا لمنتجات الألبان .

#### جنس — *Acetobacter*

ويشمل سبعة أنواع ، منها أنواع هامة فى صناعة الخل مثل *Acetobacter xylenum* وكذلك *Acetobacter aceti* أفراد هذا الجنس تتراوح أشكالها

المورفولوجية بين البيضية الشكل والعصوية . وتتواجد مفردة أو في أزواج أو في سلاسل . وتظهر الخلايا بأشكال مختلفة pleomorphic types أثناء دورة نموها . بعضها متحرك والبعض الآخر غير متحرك . الخلايا الحديثة السن تكون سالبة لصبغة جرام . عادة تكون هوائية إجباراً ويمكنها أكسدة عديد من المواد العضوية مكونة أحماضاً . ومن أهم التفاعلات التي تقوم بها أكسدة كحول الايثانيل إلى حمض خليك وقد استغلت هذه الظاهرة في الصناعة لإنتاج الخل . يتميز أفراد هذا الجنس وبخاصة تلك المنتجة للخل مثل *A. xylenum* بتكوين غشاء سطحي مكون من السليلوز يشبه كثيراً السليلوز النباتي .

#### جنس — *Brucella*

يشمل عصويات صغيرة تراوح أحجامها بين ٥,٥ × ٢ ميكرون وقد تبدو أحياناً بشكل كرويات . ذات غلاف مميز . غير متحركة . لا تسيل الجيلاتين لا تنتج غازات عند تخمير الكربوايدرات . تحلل اليوريا . طفيليات حيوانية تصيب الأجهزة التناسلية والغدد الثديية وكذلك الأجهزة التنفسية والهضمية للحيوانات الاقتصادية والإنسان وتعرف الحالات المرضية الناتجة عن هذه البكتيريا Brucellosis وهذه التسمية تشمل مرض الحمى المالطية الذي تسببه كل من البكتيريا *Brucella melitensis* و *Br. suis* في الإنسان ومرض الإجهاض المعدى في الماشية والذي يسببه *Br. abortus*

### الجزء الثامن

#### العصويات غير الهوائية إختياراً والسالبة لجرام

Gram - Negative Facultatively Anaerobic Rods

#### العائلة Family Enterobacteriaceae

درست أجناس هذه العائلة بدرجة أكبر من غيرها من العائلات ، حيث أنها تشمل كثيراً من الأجناس ذات الصلة الوثيقة بحياة الإنسان . عصويات



مستقيمة متحركة عن طريق الأسواط الجسمية . تنمو هذه البكتيريا جيدا على البيئات الغذائية . ويمكنها تخمير كثير من السكريات مع انتاج أحماض وغازات (يد ٢ ك ١٢) . تتميز الأجناس المختلفة تبعا لقدرتها على تخمير سكر اللاكتوز وكذلك تبعا لنوع المواد الناتجة عن هذا التخمر . لاجناسها القدرة على اختزال النترات إلى نريت فيما عدا جنس *Erwinia* . تعيش أفراد هذه العائلة في القنوات الهضمية للإنسان والحيوان دون أن تسبب أعراضا مرضية . كما أن بعضها منها قد تسبب أمراضا للإنسان والحيوان والنبات . الكثير من أفراد هذه العائلة رميات تعيش على البقايا العضوية بالتربة . تقسم هذه العائلة إلى فصائل Tribes على أساس قدرة أفرادها على تخمير سكر اللاكتوز وكذلك على أساس قدرتها على تحليل اليوريا واستعمال حمض الستريك كمصدر للكربون :

١ - فصيلة *Escherichias* - Tribc 1 تشمل الأجناس ذات القدرة على تخمير سكر اللاكتوز مكونة أحماض وغازات خلال ٢٤ ساعة على درجة ٣٧°م أو خلال ٤٨ ساعة على درجة ٢٥° - ٣٠°م . تستعمل حمض الستريك أو أملاحه كمصدر للكربون . وتشمل هذه الفصيلة الأجناس التالية :

جنس - *Escherichia*

يعتبر النوع المثالي منه *Escherichia coli* أكثر البكتيريا دراسة وهي عصويات متحركة عن طريق اسواط جسمية (شكل ١٥٤) سالبة لصبغة جرام هوائية اختيارا . تخمر الجلوكوز واللاكتوز مع انتاج أحماض وغازات (يد ٢ ك ١٢ بكميات متساوية) . كما أنها لا تكون المركب المتعادل استيل ميثيل كاربينول (راجع التحولات الايضية للكربوايدرات) . أنواع هذا الجنس تعطى تفاعلا موجبا مع اختبار أحمر الميثيل - لا تستعمل حمض اليوريك Uric acid كمصدر وحيد للنيتروجين . تنتج الاندول . تتواجد في الأمعاء الغليظة للإنسان ويمكن عزلها من البراز أحيانا . تسبب أمراضا للإنسان عندما

تتواجد باعداد كبيرة جدا مثل مرض الالتهاب البريتوني peritonitis ومرض  
البواسير والناسور cystitis

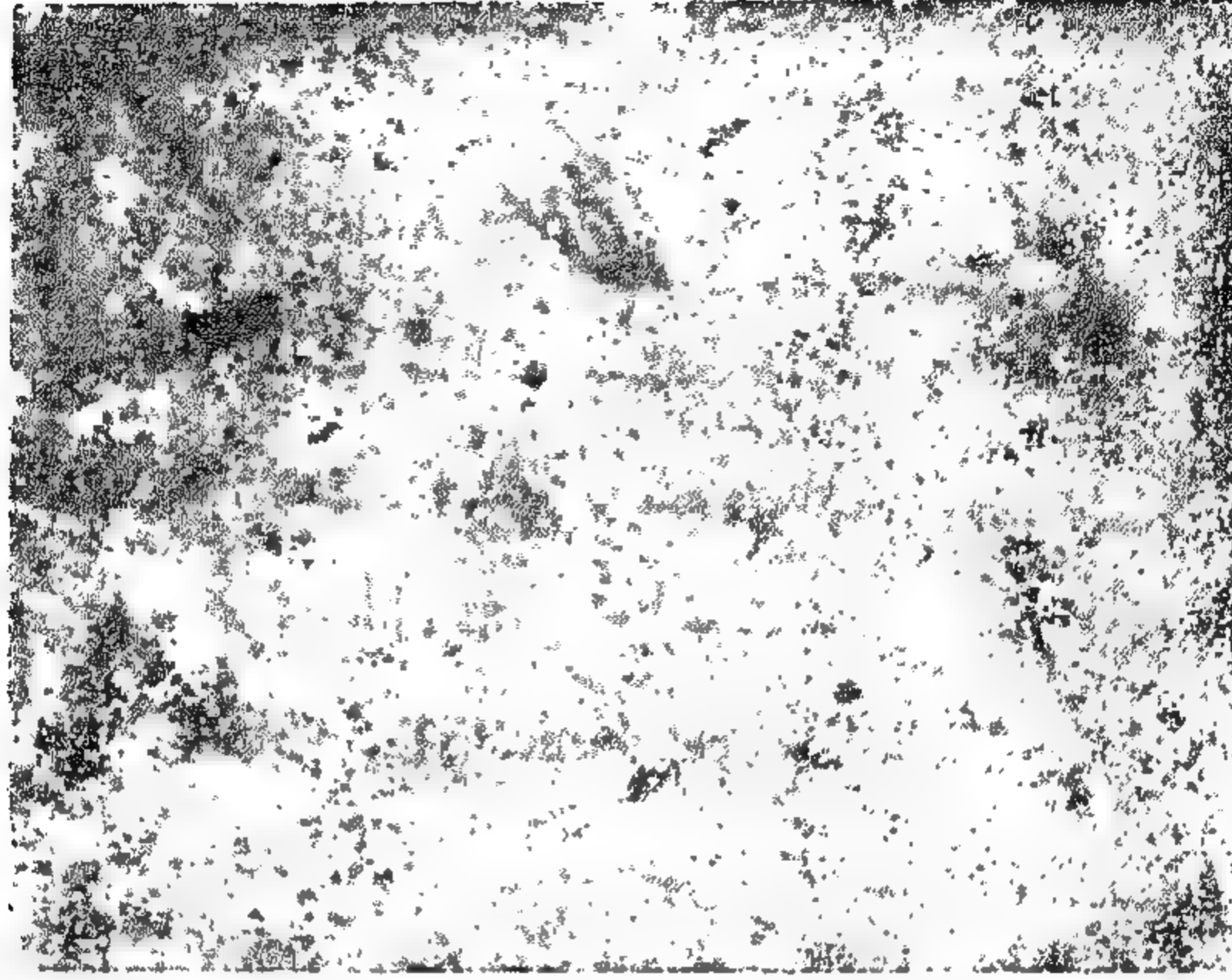


شكل ١٥٤ : لوحة تبين خلايا من جنس *Escherichia* (أ) سلالة من البكتيريا  
*Escherichia coli*، (لا حظ الأسواط الجنسية ذات المظهر العادي كما يلاحظ قلة عدد الأسواط  
على الخلية وهي صفة مميزة لأفراد هذا الجنس . (ب) سلالة من نفس البكتيريا تبين مواضع الأسواط  
الملتفة . (ج) سلالة من نفس البكتيريا تبين الأسواط الجنسية العادية المتموج والقليلة العدد .  
(د ، هـ) *Escherichia Freundii* (د) - خلية خيطية تحمل أسواطاً جنسية غير عادية المتموج  
(هـ) أسواط جنسية عادية المتموج .

جنس — *Salmonella*

عضويات متحركة بأسواط جنسية (شكل ١٥٥) . لاتسيل الجيلاتين .  
لاتنتج الاندول . تكون غاز كبريتور الايدروجين أو لاتكونه variable test .  
تكون أحماضا فقط عند تخميرها للسكريات فيما عدا سكر اللاكتوز والسكروروز  
(السكريات الثنائية) . لاتكون المركب المتعادل استيل ميثيل كاربينول .  
وبالتالى فهي موجبة لاختبار أحمر الميثيل . تستعمل السترات كمصدر للكربون .  
تحتزل النترات إلى نيتريت . لاتحلل اليوريا . ومن أنواعها :

*Salmonella typhosa* . المسبب للحمى التيفودية



شكل ١٥ : لوحة لبعض خلايا من جنس *Salmonella* (ا ، ب ، ج) خلايا *Salmonella typhimurium* فنى (ا) تظهر أسواط عادية التموج ، (ب) تظهر أسواط ذات موجات قصيرة (ج) يظهر ظاهرة *biplicity* (د) *Salmonella typhosa* أسواط جسمية عادية (هـ ، و) *Salmonella wichita* (هـ) أسواط جسمية عادية (و) سلا لة ذات أسواط كثيرة التموج .

مسببة عن حدوث الحمى	<i>Salmonella Schottmuelleri</i>
الباراتيفودية	<i>Salmonella paratyphi</i>
	<i>Salmonella hirschfeldii</i>
يسبب اعراضا تسممية حادة	<i>Salmonella typhimurum</i>

#### جنس — *Shigella*

أنواعه خمسينيات متحركة بأسواط جسمية. يتميز عن أنواع *Salmonella* في عدم قدرتها على انتاج غاز كبريتور الايدروجين . تنتج أولا تنتج الاندول . لا تسيل الجيلاتين . تشبه أنواع الجنس السابق في عدم قدرتها على مهاجمة اللاكتوز إلا أن بعض أنواعه تهاجمه وتخمره ببطء شديد ، وكذلك تشبهها في عدم تكوينها للمركب المتعادل استيل ميثيل كاربنول ، وفي قدرتها على اختزال النترات إلى نيتريت . كائنات ممرضة تلوث الأطعمة والمياه . تسبب حالات مرضية توصف بالـ *Shigellosis* .



تسبب مرض الدوسنتيريا الباسيلية  
*Shigella dysenteriae*  
 أو *Shigella shiga*  
 Bacillary dysentery  
 جميع الأنواع تعيش في أجسام الحيوانات ذات الدم الحار .

## ٢ — الفصيلة : *Tribe Klebsiella*

عصويات قصيرة . ذات نهايات مستديرة تتواجد بمفردة باستمرار ، ذات غلاف capsule سميك . تعيش معيشة هوائية . تخمر السكريات أحيانا إلا أن نتائج تخمرها متغيرة variable وليست ثابتة ، قد تنتج أولا تنتج المركب المتعادل scetyl methyl carbinol أو الاندول . تختزل النترات إلى نيتريت تتواجد أنواعه في الأجهزة الهضمية والتنفسية والبولية ، التناسلية للإنسان والحيوان . ومن أهم أنواعه *Klebsiella pneumonia* .

## ٣ — الفصيلة : *Tribe Proteae*

أفراد هذه الفصيلة لا تخمر اللاكتوز اطلاقا (خلال ٣٠ يوما على درجة ٣٠°م أو ٢٥°م) ، كما أنها لا تحلل اليوريا خلال ٤٨ ساعة ، هذا علاوة على اشتراكها في الصفات المورفولوجية المميزة للعائلة . رميات تتواجد بالتربة وبالطواء وفي المياه . بعضها قد يسبب أمراضا للأجهزة البولية والتناسلية أو الهضمية تشمل هذه الفصيلة جنسا واحدا هو :

### جنس — *Proteus*

أنواعه تحمل أسواط جسمية ( شكل ١٥٦ ) وذات قدرة على تكوين مستعمرات أميبية الشكل ذات حواف غير منتظمة تنتشر بسرعة على



شكل ١٥٦ : لوحة لبعض الخلايا التابعة للجنس *Proteus mirabilis* (أ) أسواط مثالية للجنس جسمية عادية التموج (ب) *Proteus morganii* خلية ذات سوط واحد جسمي مختلف التموج (ج) *Proteus mirabilis* أسواط جسمية عديدة شديدة التموج لا حظ أن أحد الأسواط ذو تموج عادي في حين أن باقي الأسواط شديدة التموج . (د) سلا لة ذات خلايا خيطية من البكتيريا *Proteus mirabilis* تحمل عدة أسواط جسمية عادية التموج .

سطح الآجار لتغطي السطح بأكمله في فترة وجيزة تخمر الجلو كوز ولكنها لا تخمر اللاكتوز والنوع المثالي *Proteus vulgaris* ينطبق عليه أوصاف الجنس. وقد وجد تشابه في التركيب الـنتيجيني بين بعض سلالات هذا النوع ، والريكيتزيا المسببة للحمى التيفوسية .

#### ٤ — الفصيلة : *Yersinieae* Tribe

الخلايا بيضية أو عصوية . العرض ٠,٥ — ١  $\mu\text{m}$  والطول ١ — ٢  $\mu\text{m}$  غير متحركة عند ٣٧°م وتحت ٣٧°م يوجد نوعين متحركين بواسطة أسواط محيطية عادة لا تخمر اللاكتوز. وتنتج بيتا جالاكتوسيدير . تخمر الفر كتوز والجلو كوز والجليسول والمالتوز والمانيتول والمانوز بدون إنتاج غازات . لا تخمر الدلستول والإيريثريتول وفيوكوز والجليكوجين والـاينوزيتول والـزافينوز . موجب لإختبار أحمر الميثيل وسالب لإختبار فوجس بروسكاور عند ٣٧°م لبعض الأنواع . تنمو جيدا على آجار مستخلص اللحم (١ — ٢ يوم) لا تستطيع إستعمال السترات كمصدر وحيد للكربون . لا تحلل الجيلاتين لا تنتج الاندول . تنتمي إلى هذه المجموعة الجنس *Yersinia*

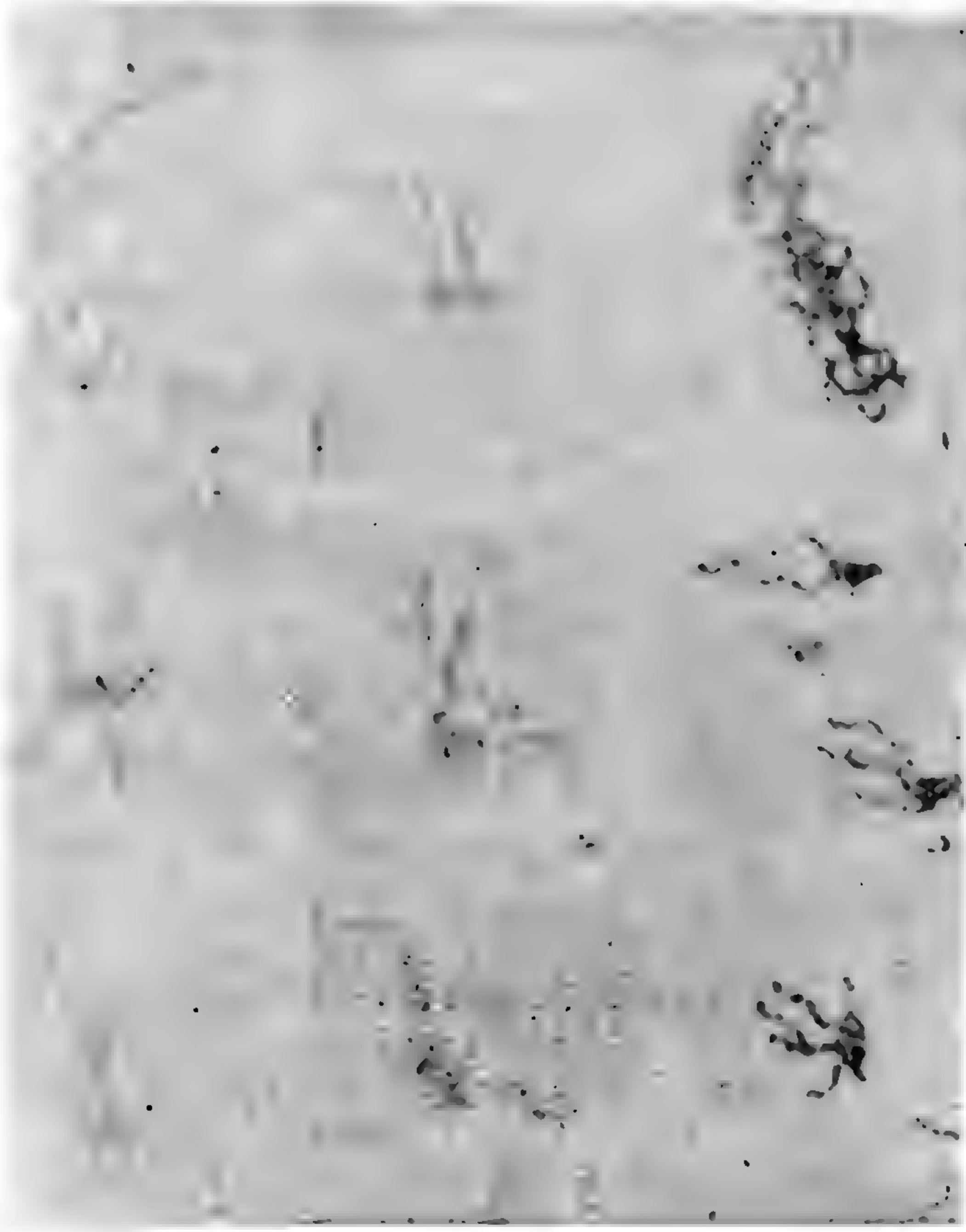
#### ٥ — الفصيلة : *Erwiineae* Tribe

عصويات قصيرة مستقيمة متحركة بأسواط جسمية (شكل ١٥٧) . تهاجم سكر اللاكتوز والجلو كوز مكونة احماضا وغازات وأحيانا أحماضا فقط . طفيليات نباتية تتميز بمهاجمتها للصفائح الوسطية (بكتات الكالسيوم) التي تربط الخلايا النباتية ببعضها وتؤدي إلى حدوث نوع من الأعفان للانسجة يعرف بالعفن الطرى ، وتشمل الفصيلة جنسا واحدا هو :

#### جنس — *Erwinia*

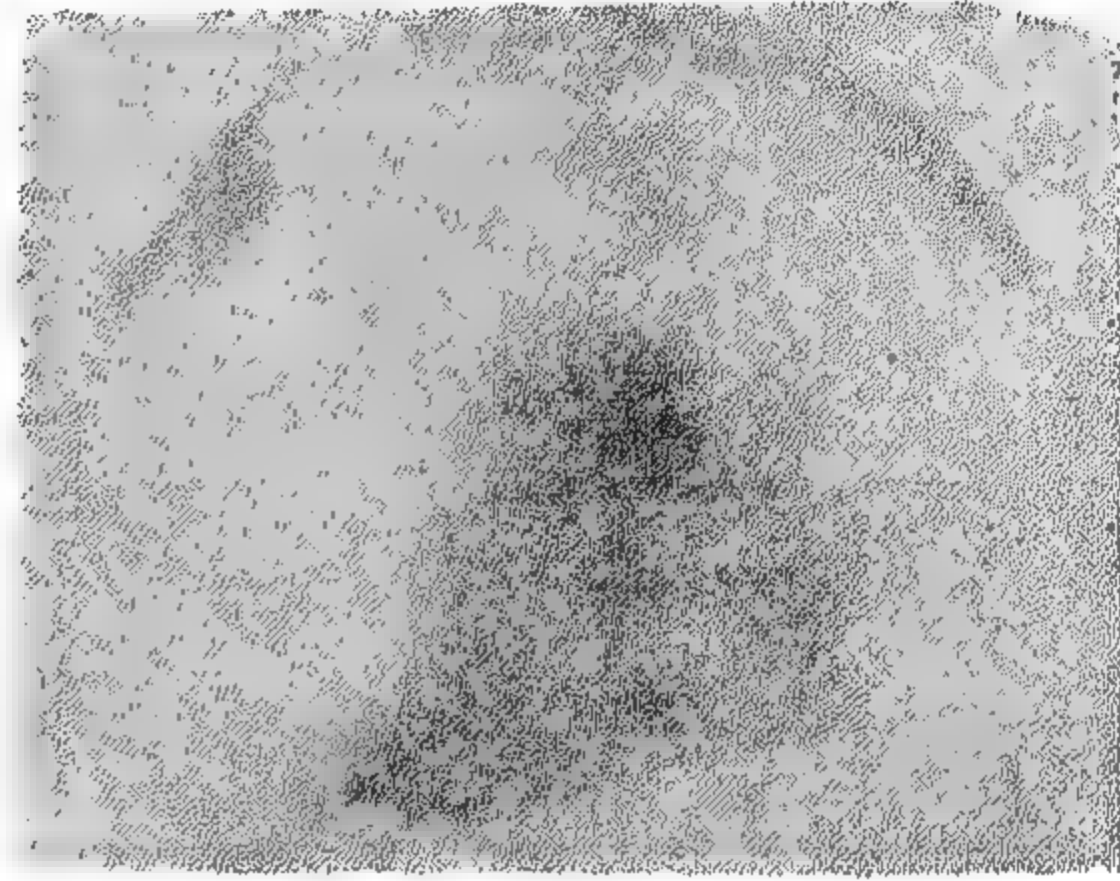
ينطبق عليه صفات الفصيلة . عادة لا تتطلب أفرادها نيتروجيتاءضويا للنمو. بعض الأنواع تخمر عددا محدودا من السكريات مع إنتاج حمض وغاز أو حمض فقط . فثلا بعض الأنواع لا يمكنها تخمير سكر اللاكتوز. قد تسيل





شكل ١٥٧ : لوحة تبين خلايا من جنس *Erwinia* ( أ ، ب ، ج ) خلايا البكتيريا  
*Erwinia amylovora* ، ١- أسواط جسمية ب - تسوط شاذ نوعاً أسواط عادية وأخرى كثيرة  
التسوج على الخلية الواحدة ج - أسواط ملتفة *E. salicis coiled* (د) *Erwinia* sp,  
أسواط جسمية عادية (هـ) *Erwinia* sp. معزول من أشجار الجوز Wall nut أسواط جسمية  
عادية (و) *E. latheryi* أسواط جسمية عادية (ز ، ح ) *E. carotouora* أسواط جسمية  
عادية الا أن النموذج (ح) يبين خليط من أسواط عادية وأخرى موجة وهذه حالة شاذة . (ط)  
*E. chrysanthemi* يظهر هذا النوع أسواط ملتفة *coiled* وأخرى موجة .

الجيلائين أو لاتسيله . تهاجم أنواعه الأنسجة النباتية الحية وتكون حالات مرضية نتيجة لموت بعض خلايا الأنسج أو قد تسبب ذهولا أو تقرحات النباتات المصابة بها (شكل ١٥٨-ب) أو تحدث تعفنا طريا (شكل ١٨٥-أ) . وفي الحالة الأخيرة تتميز البكتيريات المسببة المرض بإنتاج انزيمات بكتينية Pectin Methylestrase أو Pectin Polygalacturonase أو Pectin depolymerase أو Protopectinase وية-سال أن الأنزيم الأخير هو خليط من كـمـل الأنزيم الأول والثاني .



شكل ١٥٨ : ( أ ) قطاع في درنة بطاطس مصابة بالتعفن الطرى نتيجة للإصابة بالبكتيريا *Erwinia caratovera* ( ب ) فرع من شجرة كمثرى يظهر عليه المتفح نتيجة لإصابته بالبكتيريا *Erwinia amylovora*

من الأنواع الهامة لهذا الجنس *Erwinia caratovore* : المسبب لمرض التعفن الطرى لكثير من ثمار الخضر والفاكهة و *Erwinia amylovora* : المسببة لمرض اللفحة النارية للتفاح والكمثرى و *Erwinia aroideae* : المسببة لمرض التعفن الطرى لثمار الخضر والفاكهة و *Erwinia atroceptica* : المسببة لمرض الساق الاسود في البطاطس Black leg of potato .

#### العائلة *Vibrionaceae* Family

عصويات صلبة . سالبة لجرام مستقيمة أو منحنية غالبا متحركة بواسطة سوط طرفي ولكن بعض الخلايا قد تمتلك بالإضافة إلى ذلك أسواط جانبية

تنتج تحت ظروف معينة من النمو . التغذية Chemooiganotrophic .  
الميتابوليزم تخمري وتنفسى . موجبة للأوكسيديز . بعض الأنواع تنتج  
butylene glycol من الجلوكوز . البعض الآخر تحلل البروتين وبعضها  
تنتج الأندول . غير هوائية إختيارا . غالبا توجد في المياه العذبة أو مياه البحار  
وقد توجد في الأسماك أو الانسان . من الأجناس التى تتبع هذه العائلة *Vibrio*  
و *Aeromonas* بعض أفراد هذه العائلة ممرضة للإنسان والحيوانات . فمثلا

البكتيريا *Vibro comma* تسبب مرض الكوليرا في الانسان . والبكتيريا  
*Vibrio fetus* تسبب الإجهاض المرضى في الأغنام والماشية  
(شكل ١٥٩) .



وتوجد بعض الأجناس  
التي لم تحدد بعد درجة قرابتها  
لإحدى العائلات وتنتمي  
إلى الجزء الثامن مثل

*Chromobacterium*  
*Haemophilus* , *Flavo bacterium*  
و *Pasteurella*

جنس — *Chromobacterium*

عندما تنمى في البيئات  
الصناعية تفرز صبغة بنفسجية  
لا تذوب في الماء أو الكلور وفورم  
تنمو بالبيئات الغذائية المحتوية  
على سكريات (جلوكوز ،  
مالتوز ، لاكتوز ) مكونة  
أحماضا فقط . تسيل الجيلاتين  
ولا تكون الأندول يخنزل

شكل ١٥٩ : لوحة تبين خلايا تابعة لجنس *Vibrio*  
لاحظ احتواء الخلية على انحناء واحدة والأسواط  
الفردية (أ ، ب) خلايا *Vibrio sp.* (ج) *Vibrio comma*  
(د) *Vibrio proteus* (هـ) *Vibrio fetus*

النترات إلى نيتريت . درجة الحرارة المثالية لنموها تتراوح بين ٢٠-٢٥°م



وبعض انواعها يفضل درجة ٣٧°م . انواعها مترمة تعيش بالماء أو بالتربة .

#### جنس - *Flavobacterium*

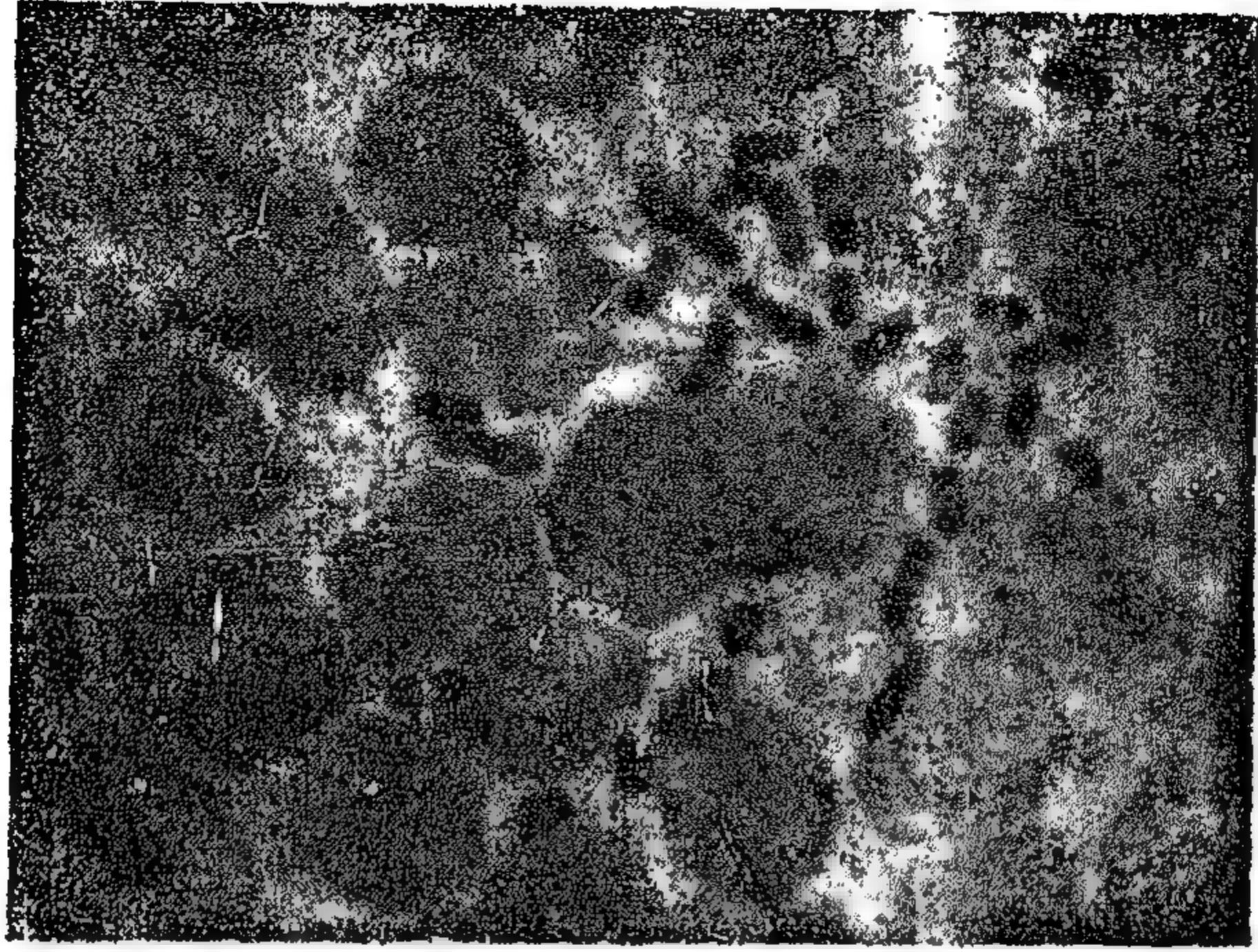
تكون أنواعه صبغات حمراء أو صفراء . تؤثر على لبن عباد الشمس محدثة تأثيرا حمضيا بدون تخثر . الا أن بعض الأنواع لا تؤثر على لبن عباد الشمس كما أن البعض الآخر يحوله إلى قلوى .

#### جنس - *Haemophilus*

يشمل كائنات دقيقة جدا . عصوية صغيرة تتصل ببعضها أحيانا لتكون خيوطا كما أنها تظهر اختلافات مورفولوجية *plcomorphic* . طفيليات ، اجبارية الا أنه يمكن تنميتها أحيانا في البيئات الغذائية بعد اضافة عوامل نمو معينة اليها . تتواجد في تقرحات أو افرازات الحيوان المصاب . كما تتواجد أيضا في الأجهزة التنفسية السليمة للفقرات . النوع المثالي للجنس *Haemophilus influenzae* كان يظن أنه المسبب الحقيقي لمرض الانفلونزا . الا أنه حاليا يعتبر بكتيريا مرافقة للمسببات الحقيقية للانفلونزا وهي فيروسات في حالات الإصابة الشديدة بالمرض .

#### جنس - *Pasteurella*

أنواع هذا الجنس تتميز بخلايا صغيرة تراوح بين البيضية والعصوية القصيرة . عندما تصبغ بطرق خاصة تظهر الصبغة بطرفي الخلية - *bipolar staining* . لاتسيل الجيلاتين . لاتجبن اللبن . معظم الأنواع تخمر السكريات وتكون نسبة بسيطة من الأحماض فيما عدا اللاكتوز الذي تخمره بنسبة بسيطة دون انتاج غازات . هوائية . بعض الأنواع غير هوائية اختيارا . طفيليات للانسان والحيوان والطيور ومن أهم أنواعه *Pasteurella pestis* المسببة لمرض الطاعون في الانسان والماشية (شكل ١٦٠) . وهناك أنواعا أخرى مثل *P. multocida* وهي تعيش معيشة رمية اختيارا كما يمكنها أن تتطفل على عديد



شكل ١٦٠ : خلايا البكتيريا *Pasteurella pestis* كما تظهر في غشاء مثبت ومصبوغ من دم فأر مصاب بالطاعون . متوسط حجم الخلية  $2 \times 1$  ميكرون . لاحظ الاصطباغ عند طرفي الخلية bipolar staining .

من الحيوانات أحيانا . وهي منتشرة بكثرة في جميع أنحاء العالم وهي تصيب الطيور مسببة مرض الكوليرا في الدواجن fowl cholera ، كما أنها تصيب الأرانب ، والخنزير مسببة أمراضا مختلفة الأعراض . وخلايا هذا النوع ، أصغر حجما من النوع الأول حيث يتراوح حجمها بين  $3,3 - 1,3 \times 0,15$  ميكرون . غير متحركة . تتميز أيضا بالاصطباغ الطرفي (bipolar) .

وهناك نوع آخر هو *P. pseudotuberculosis* يمكنه أن يحدث أمراضا معدية للدواجن . وأحيانا يمكنها عدوى الحيوانات الثديية بما فيها الإنسان تحدث الإصابة بها عن طريق الفم أو عن طريق الحشرات الثاقبة الماصة للدم . وأعراض المرض قد تبدو شبيهة بمرض السل إلا أنها تكون مصحوبة بالسعال . خلايا هذا النوع تظهر الاصطباغ الطرفي ، وهي ذات مقاسات كبيرة نوعا  $5,0 \times 1,5$  ميكرون مفردة أو في سلاسل تحمل أسواطاً جسمية .

### الجزء التاسع

البكتيريا غير الهوائية والسالبة لجرام Gram-Negative Anaerobic Bacteria

العائلة Family Bacteroidaceae

تعتبر هذه العائلة جميعا لكائنات بكتيرية مختلفة من الناحية المورفولوجية



بعضها متعرف عليه والبعض الآخر غير معرف . عصويات سالبة لجرام لا تكون جراثيم داخلية .

#### جنس — *Bacteroides*

يشمل هذا الجنس الأنواع العصوية ذات الأطراف المستديرة والتي تتواجد خلاياها مفردة أو في أزواج أو في سلاسل قصيرة . أحيانا تظهر اشكالا مورفولوجية مختلفة Plcomorphic . بعض الأنواع ذات غلاف . بعضها متحرك والبعض الآخر غير متحرك ، والأنواع المتحركة تحمل أسواطاً جسمية . بكتيريات غير هوائية ، قد تخمر أو لاتخمر الجلوكوز الا أن كل الأنواع ، لا يمكنها تخمير السكريات الثنائية كاللاكتوز أو السكروز . لاتخزل النترات إلى نيتريت ، ولكنها تكون غازات عندما تنمو في بيئات تحتوى على البيتون . تتواجد في القنوات الهضمية في الأجهزة البولية والتناسلية للإنسان . بعضها تسبب أمراضا . النوع المثالى *Bacteroides fragilis*

#### جنس — *Fusibacterium*

يشمل بكتيريات عصوية مستقيمة أو منحنية ذات أطراف مدببة أو مسحوبة . تتواجد مفردة أو في أزواج أو في سلاسل . بعض أنواعها متحرك والبعض الآخر غير متحرك . الأنواع المتحركة تظهر حركة اهتزازية عند الطرفين وهذا لايعنى انها تحمل أسواطاً طرفية . تحتوى خلاياها على حبيبات واضحة وحيث أن هذه البكتيريات سالبة لجرام فان وجود الحبيبات وقابليتها للاصطباغ بدرجة كبيرة قد تجعل الخلايا تبدو وكأنها موجبة لصبغة جرام عندما تنمو على البيئات الغذائية الصلبة المقواه تعطى مستعمرات زبدية القوام Butyrous غير متجانسة cloudy مرتفعة ولزجة مستديرة كاملة الحافة عندما تعلق خلاياها في الماء تعطى لونا أبيض متغيرا . ذات مطالب نمو معقدة غير هوائية محدودة القدرة المرضية على الإنسان والحيوان . تتواجد في الفم دون أن تحدث امراض . نوعها المثالى *Fusobacterium Fusiforme*

ويوجد عدد من الأجناس التي تحدد بعد درجة قرابتها لإحدى العائلات وتنتمي إلى الجزء التاسع وهي *Succinimonas* و *Desulfovibrio* و *Butyrivibrio* (شكل ١٦١) و *Selenomonas* و *Lachnospira* و *Succinivibrio*



شكل ١٦١ : لوحة تبين بعض الخلايا التابعة لجنس *Selenomonas* ذات الخلايا المنحنية وتوزع عليها الأسواط بطريقة غير عادية ( أ ، ب ، ج ) *Selenomonas ruminatum* معزولة من كرش الحيوانات المجترة ، تحمل الأسواط على الناحية المقعرة من الخلية . ( د ، هـ ) خلايا من نفس البكتيريا وهي على وشك الانقسام ، لاحظ بدء تكوين الأسواط ، ( و ) *Selenomonas saprogenum*

#### الجزء العاشر

بكتيريا كروية أو عصوية كروية وسالبة لجرام

Gram — Negative Cocci and Coccobacilli

العائلة Family Neisseriaceae

الخلايا كروية في أزواج أو في كتل أو عصويات في أزواج أو في سلاسل قصيرة . غير مسوطة . سالبة لجرام . بعض الأنواع تكون أصباغ

من Xanthophyll . بعض الأنواع تحتاج إلى إحتياجات غذائية معقدة بعد العزل مباشرة ولكن بإستمرار وجودها في البيئة الصناعية يمكن أن تنمو في بيئة بسيطة. معظم الأنواع تنتج الكاتاليز وسيتوكروم أو كسيديز هوائية ومنها الجنس *Neissera*

جنس — *Neisseria*

خلايا كروية تتواجد في أزواج مع تفلطح السطوح المتلاصقة للخلايا . سالبة لصبغة جرام . لها خمسة أنواع يمكنها افراز صبغات صفراء أو صفراء محضرة أو رمادية . الأنواع الأخرى لا تفرز صبغات . تنمو بضعف ملحوظ على البيئات الفقيرة غير المقواه ذات نشاط انزيمى محدود . يمكنها مهاجمة عدد قليل من الكربوايدرات . لا تنتج الاندول . لا تختزل النترات . تكون كمية كبيرة من انزيم الكاتاليز فهي بذلك هوائية وأحيانا غير هوائية اختاراً . بعض الأنواع تحلل كرات الدم الحمراء haemolytic فهي طفيليات على الحيوانات . النوع المثالي *Neisseria gonorrhoeae* وتسبب حالات مرضية تعرف بالسيلان . وكذلك *N. meningitidis* الذي يسبب الإلتهاب السحائي .

### الجزء الحادى عشر

### الكرويات غير الهوائية والسالبة لجرام

Family Gram — Negative Anaerobic Cacci

العائلة : *Famolg Veillonellaceae*

كرويات توجد في أزواج أو خلايا مفردة أو كتل أو سلامل لا تكون جراثيم داخلية . غير متحركة وغير مسوطة . سالبة لجرام . التغذية Chemoorg anotrophic . تحتاج إلى إحتياجات غذائية معقدة. قد تخمر أولا

تخمّر الكربوهيدرات . غير هوائية . سالبة لوجود السيتو كروم أو كسيديز والكاتاليز . ولكن بعض السلالات تحطم فوق الأكاسيد بواسطة pseudacatalase . متطفلات على الحيوانات ذات الدم الحار مثل الإنسان وغيره من الحيوانات . ومنها الجنس *Veillonella*

جنس - *Veillonella*

خلايا كروية صغيرة الحجم ذات قطر يتراوح بين ٣ - ٤ ميكرون . الخلايا تبدو غير مميزة حيث تكون مرتبطة ببعضها بمادة تفرزها الخلايا بنفسها سالبة لصبغة جرام . تنمو جيدا على البيئات الغذائية العادية ذات نشاط انزيمى مرتفع . وهى عادة غير هوائية اجبارا . تعيش متطفلة فى فم الانسان وفى القنوات الهضمية وفى الأجهزة التنفسية والتناسلية للانسان وبعض الحيوانات الأخرى . النوع المثالى *Veillonella parvula* .

### الجزء الثانى عشر

البكتيريا ذاتية التغذية إجبارا والممثلة كيمائيا والسالبة لصبغة جرام

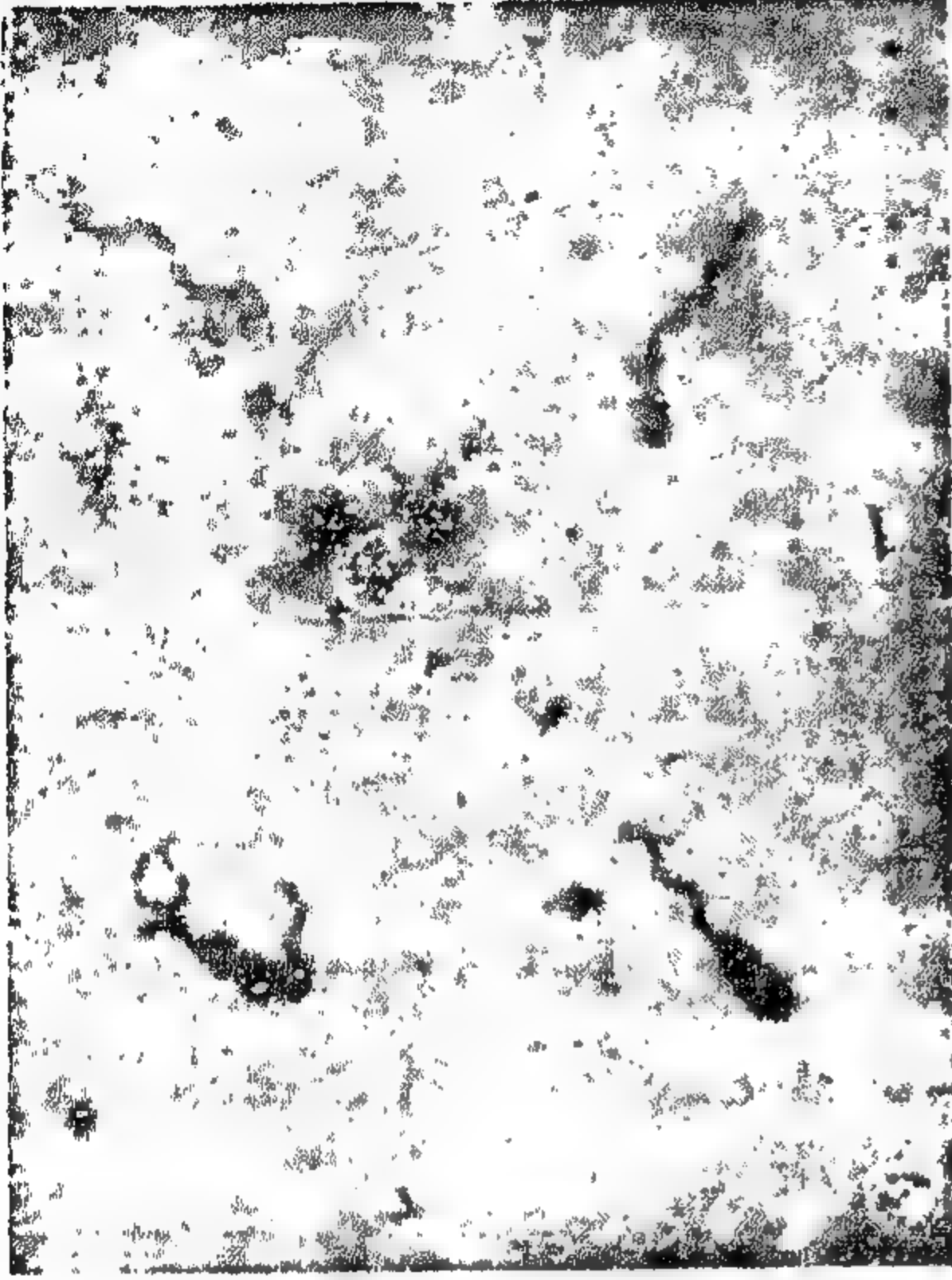
Gram — Negative Chemolithotrophic Bacteria

العائلة *Nitrobacteraceae*

تشمل بكتيريات التآزت *Nitrifying bacteria* وهذه تشمل أنواعا تختلف فى شكلها المورفولوجى بين العصويات والكرويات والحلزونات .

وجميعها ذات أسواط طرفية غير متجذمة سالبة لصبغة جرام . ومن الناحية الفسيولوجية تعتبر بكتيريات هوائية وغالبيتها ذاتية التغذية اجبارا . وكثير من المواد العضوية التى تتواجد بالبيئات الغذائية العادية تكون سامة لمثل هذه البكتيريات لذلك فهى تنمى وتغزل على بيئات غير عضوية كلية مثل بيئة السليكا جيل *silica gel* . وتقسم بكتيريا التآزت إلى مجموعتين مميزتين فيما يختص بطريقة حصولها على الطاقة .





شكل ١٦٢ : أ ، ب *Nitrosomonas europaea* ج ، د - بعض أنواع أخرى للجنس *Nitrosomonas* لاحظ الأسواط الطرفية المفردة *monotrichous* ذات الموجات الطويلة .

(أ) تلك التي تؤكسد الأمونيا إلى نيتريت *nitrite* مثل النوع *Nitrosomonas europaea* (شكل ١٦٢) *Nitrosomonas nitrosus*

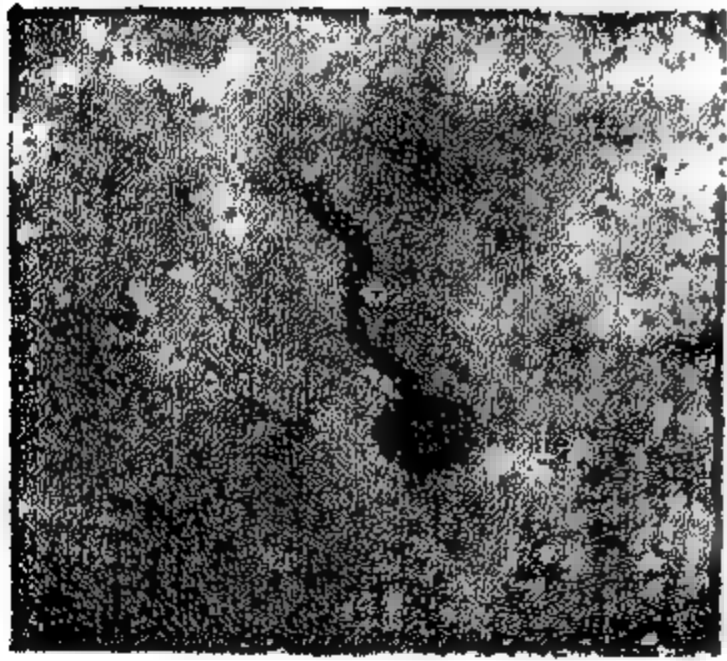
(ب) تلك التي تؤكسد النيتريت إلى نترات مثل *Nitrobacter agilis* *Nitrobacter winogradskyi* (شكل ١٦٣)

وعموما تتواجد بكتيريات التازت بالتربة حيث تلعب دورا هاما في دورة النيتروجين كما سبق أن أوضحنا . وتشمل هذه العائلة ما يلي من أجناس .

*Nitrosopira* و *Nitrosoapira*

*Nitrobacter* و *Nitrococcus*

*Nitrosomanas* و *Nitrosococcus* و *Nitrosolobus*



ويتبع الجزء الثاني أيضا البكتيريات التي تمثل الكبريت ومنها الأجناس :

*Thiobacillus*

*Macramonas* و *Thiobacterium*

*Nitrobacter agilis* لاحظ أنها

*Thiavulum* و *Thiospira* و *Sulfolobus* و تحمل سوطا واحدا جانبيا

*lateral monotrichous*

. أفضا هذه المجموعة من البكتيريا أكسدة الكبريت المختل، مثا



يد ، كب وكذلك الكبريت المعدني مع تكوين كبريتات . ويمكن لحبيبات الكبريت أن ترسب داخل أو خارج الخلايا . وفيما عدا حالات شاذة قليلة تعتبر أفراد هذه المجموعة هوائية اجبارا وذاتية التغذية . وتعتبر البكتيريا *Thiobacillus thiooxidans* ( شكل ١٦٤ ) من أكثر أفراد هذه المجموعة دراسة للتعرف على الفروق الفسيولوجية بين البكتيريات ذاتية التغذية وغير ذاتية التغذية . وهذه البكتيريا ذات قدرة على أكسدة الكبريت المعدني كوسيلة للحصول على الطاقة اللازمة لها . محاولة إياه إلى كبريتات كما تستعمل غاز ثاني أكسيد الكربون كمصدر للكربون ويمكنها أن تنمو في بيئة على درجة عالية من الحموضة حيث أنها تتحمل درجة من الـ pH تصل إلى ( صفر ) وهذه الصفات الفريدة كانت قد أوحى إلى بعض العلماء بأن التفاعلات الايضية لمثل هذه البكتيريا لا بد وأن تكون مختلفة كلية عن البكتيريات غير ذاتية التغذية إلا أن الدراسات الدقيقة قد بينت أنه ليس هناك فرق في التفاعلات الايضية بين هذه البكتيريا الذاتية وبين الأخرى غير ذاتية التغذية .

#### عائلة ٦ — Family Siderocapsaceae

أفراد هذه العائلة تنظم خلاياها بشكل خيوط غير متفرعة تتصل بالبيئات الصلبة النامية عليها . ويلاحظ لكل خيط قاعدة وقمة بمعنى أن الخيط يكون



شكل ١٦٤ : بعض أنواع جنس *Thiobacillus* ( ا ، ب ) خلايا البكتيريا *Thiobacillus thiooxidans* لاحظ أنها تحمل أسواط طرفية مفردة (ج) polar monotrichous (ج) خلية البكتيريا *Thiobacillus thioparus* لاحظ الأسواط الطرفية ملتفة (واحد على كل طرف) .

ذا قطر أكبر عند القاعدة . وعادة تحاط الحيوط بغلاف sheath يكون سمك بسيط عند القمة وعريضا واضحا عند القاعدة . ومادة الغلاف تكون محتوية على ايدروكسيد الحديديك وخاصة عند القاعدة . الخلايا الفردية المكونة للخيوط تكون عصوية واحيانا كروية أو بيضية تنقسم في ثلاث اتجاهات لتكون كونيديات مستديرة مفردة وغير متحركة وتشمل هذه العائلة الأجناس التالية :

*Ochrobium* و *Siderococcus* و *Siderocapsa* و *Naumanniella*

### الجزء الثالث عشر

#### البكتيريا التي تنتج الميثان

Methane — Producing Bacteria

العائلة : *Methanobacteriaceae*

الخلايا عصوية أو كروية — متحركة أو غير متحركة — سالبة أو موجبة لجرام . لاتكون جراثيم داخلية . غير هوائية إجبارا . وتحصل على الطاقة عن طريق تكوين الميثان عن طريق إختزال ك<sup>٢</sup> . وتعتبر هذه العائلة مجموعة فسيولوجية متخصصة جدا ولا تستعمل الكربوهيدرات أو المواد البروتينية أو المواد العضوية إلا الحلات أو الميثانول وفيما يلي مفتاح للتمييز بين الأجناس التي تتبع هذه العائلة

أ — عصويات أو سلاسل من خلايا كروية الجنس

*Methanobacterium*

ب — كرويات كبيرة في مكعبات

*Methanosarcina*

ج — كرويات مفردة أو في أزواج أو تجمعات غير منتظمة

## الجزء الرابع عشر

### الكرويات الموجبة لجرام

Gram — Positive Cocci

العائلة *Micrococcaceae*

تشمل البكتيريا الكروية ( المستديرة ) الشكل . الهوائية أو غير الهوائية . تتميز خلاياها بتكوين تجمعات معينة عقب الانقسام تختلف باختلاف الاجناس . فمنها ما تتجمع خلاياه في أزواج وتكون الخلايا مفلطحة في اماكن الالتصاق أو تتجمع في سلاسل طويلة أو قصيرة ( خليتين أو أكثر ) أو في رباعيات أو في مكعبات منتظمة أو غير منتظمة . احتياجاتها الغذائية معقدة تتطلب لنموها وجود أحماض امينية وفيتامينات معينة بالبيئة . قد تكون اصباغا غير قابلة للذوبان في الماء ذات لون يختلف بين الأصفر والأحمر والبرتقالى .

جنس — *Micrococcus*

خلايا الأنواع المختلفة من هذا الجنس تتواجد في مجاميع غير منتظمة ونادرا ما تتجمع في شكل مكعبات . افراد هذا الجنس تعتبر موجية لصبغة جرام . بالرغم من أن خلايا بعض الأنواع تفقد قدرتها على الاحتفاظ بصبغة الكريستال البنفسجى بحيث يمكن أن توصف بأنها سالبة لصبغة جرام . بعض أنواع هذا الجنس قد تحتوى على سلالات قادرة على الحركة motile . تنمو بدرجة كبيرة على بيئات الآجار المغذى . وبعض الأنواع تفرز صبغات صفراء أو برتقالية أو حمراء غير قابلة للذوبان في الماء . موجبة لاختبار الكاتاليز ( هوائية ) ، تخمر الجلوكوز وتنتج كمية قليلة من الأحماض . لا تخمر اللاكتوز . تسيل الجيلاتين ببطء ملحوظ . أنواع هذا الجنس رميات أو طفيليات اختيارية أو اجبارية ولكنها ليست ممرضة تماما . النوع المثالى

*Micrococcus luteus*

جنس - *Staphylococcus*

خلايا كروية تتواجد مفردة أو في أزواج أو في مجاميع غير منتظمة وبالأخص عندما تنمى في البيئات السائلة . غير متحركة . موجبة لصبغة جرام . بعض الأنواع تكون صبغات صفراء أو برتقالية غير قابلة للذوبان في الماء وبخاصة على البيئات المحتوية على تركيزات مرتفعة نسبيا من ملح الطعام . معظم الأنواع والسلالات تكون مركب الاستيل ميثيل كاربويل (Acetoin) عند تخميرها للجلو كوز كما أنها تحلل الأرجنين منتجة غاز الأمونيا ( نيد ) كما أنها تحتزل النترات . وذات قدرة على تخمير عديد من المواد الكربوايدراتية .

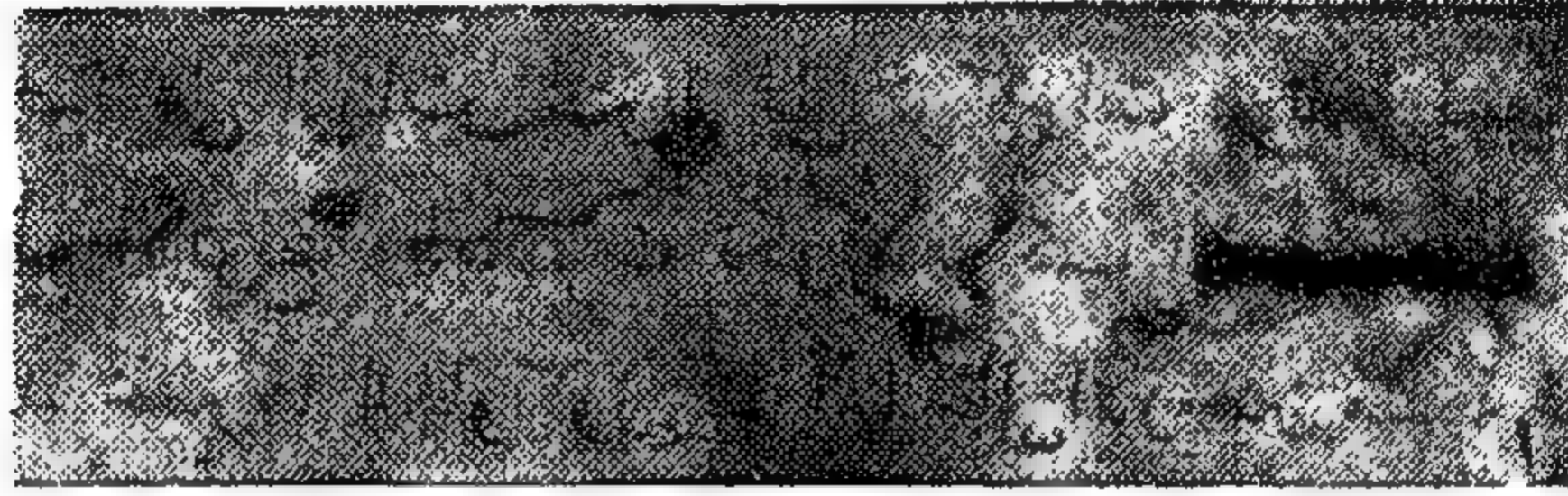
تتطلب لنموها مصدرا عضويا من النيتروجين ( أحماض امينية ) علاوة على بعض الفيتامينات عند محاولة تنميتها في البيئات التركيبية . تنمو بغزارة على البيئات السائلة الغنية بالمحتويات الغذائية مكونة تعكيرا واضحا مع تكوين غشاء حلقى على سطحها . موجبة لاختبار الكاتاليز هوائية أو غير هوائية اجبارا تنمو تحت الظروف غير الهوائية اذا توفرت لها مادة كربوايدراتية سهلة التخمر ، ولكن تنمو بدرجة أحسن في الظروف الهوائية . السلالات ذات قدرة على تحليل كرات الدم الحمراء . يمكنها افراز سموم toxins بجسم العائل أو في بيئة النمو فهي سلالات ممرضة أو قد تحدث تسمما غذائيا تتواجد غالبا على الجلد والغدد الجلدية وفي الأغشية المخاطية للحيوانات ذات الدم الحار وعلى كثير من المواد الغذائية . النوع المثالي *Staphylococcus aureus*.

العائلة *Streptococcaceae* Family

الخلايا كروية أو بيضية في أزواج أو في سلاسل مختلفة الطول أو في رباعيات . غير متحركة ، أو نادرة الحركة لا تكون جراثيم داخلية . موجبة لجرام . التغذية Chemoorganotrophic الميتابولزم تخمري ( تكون حمض



لاكتيك وخليك وفورميك وكحول إيثايل ) . تكون ك<sub>١</sub> من الكربوهيدرات  
الإحتياجات الغذائية معقدة ومختلفة . إختبار الكاتاليز مختلف . غير هوائية  
اختيارا .



شكل ١٦٥ خلايا تابعة لجنس *Streptococcus* (١) سلسلة من *Strept. sp. type D* في أطوار  
مختلفة من الانقسام غير واضح بالصورة سكان خروج الأسواط الا أن الأسواط عادية التوج  
( ب ) *Streptococcus sp. type D* تبين خليتين كرويتين تحمل أسواطاً طرفية عديدة polar  
multitrichous ذات تموجات عادية (د) زوجين من الخلايا من طرز D بعضها يحمل أسواطاً  
مختلفة التوج .

#### جنس — *Streptococcus*

خلايا كروية أو بيضية ( نادراً متطاولة أو عصوية ) تتواجد في أزواج  
أو في سلاسل طويلة أو قصيرة . تفرز طبقة غلاف بسيطة جداً إلا أنه يمكن  
ملاحظة طبقة غلاف واضحة في بعض الأنواع في ظروف معينة . خلاياها غير  
متحركة فيما عدا بعض السلالات التابعة لبعض أنواع الجنس حيث تتحرك  
الخلايا عن طريق أسواط جسمية ( شكل ١٦٥ ) خلايا موجبة لصبغة جرام .  
منها أنواع ممرضة ، وأخرى تعيش في منتجات الألبان والبعض الآخر يعيش  
معيشة رمية .

#### جنس — *Leuconostoc*

الخلايا في حالتها الطبيعية دائرية ( كروية ) . وفي بعض الحالات الخاصة .  
عندما تتواجد الخلايا بثمار الفاكهة أو الخضر الحمضية التأثير ، فإن الخلايا



تصبح ذات طرفين مدبيين أو تتحول إلى المظهر العصوي . بعض الأنواع تنمو في البيئات المحتوية على سكروز مع افراز مواد هلامية لزجة مميزة بالبيئة . تنمو في البيئات الروتينية الا أن نموها يزداد إذا ما أضيف إليها مستخلص الخميرة أو المستخلصات النباتية كعصارة الطماطم أو غيرها من الخضروات وعموماً يمكن لأنواع هذا الجنس أن تخمر الجلوكوز مع تكوين كمية محدودة من الأحماض ( خليك ، لاكتيك ) . وكحول الايثانل كما أن ٢٥ ٪ من السكر المتخمر يتحول إلى ك١٠ . نادراً ما تبجن اللبن . تختزل سكر الفركتوز إلى مانيتول mannitol . تتواجد طبيعياً في اللبن وفي العصارات النباتية . النوع

المثالي *Leuconostoc mesenteroides*

### الجزء الخامس عشر

#### العصويات والكرويات التي تكون جراثيم داخلية

#### Endospore Forming Rods and Cocci

#### العائلة *Family Bacillaceae*

الخلايا عروية — جنس واحد كروي — لا تكون ميسيليوم تكون جراثيم داخلية . معظم الأنواع موجبة لجرام . متحركة بأسواط جانبية أو محيطية أو غير متحركة هوائية — غير هوائية إختياراً — غير هوائية .

وفيما يلي مفتاح لتقسيم العائلة إلى الأجناس المختلفة

#### ١ — الخلايا عصوية

أ — هوائية أو غير هوائية إختياراً . غالباً تنتج الكاتاليز الجنس *Bacillus*

ب — تتطلب ضغط منخفض من الأوكسوجين ، لا تنتج الكاتاليز

#### الجنس *Sporolactobacillus*

ج — غير هوائية

ج ١ — لا تختزل الكبريتات إلى كبريتيد الجنس *Clostridium*

ج ٢ — الكبريتات تختزل إلى كبريتيد الجنس *Desulfotomaculum*

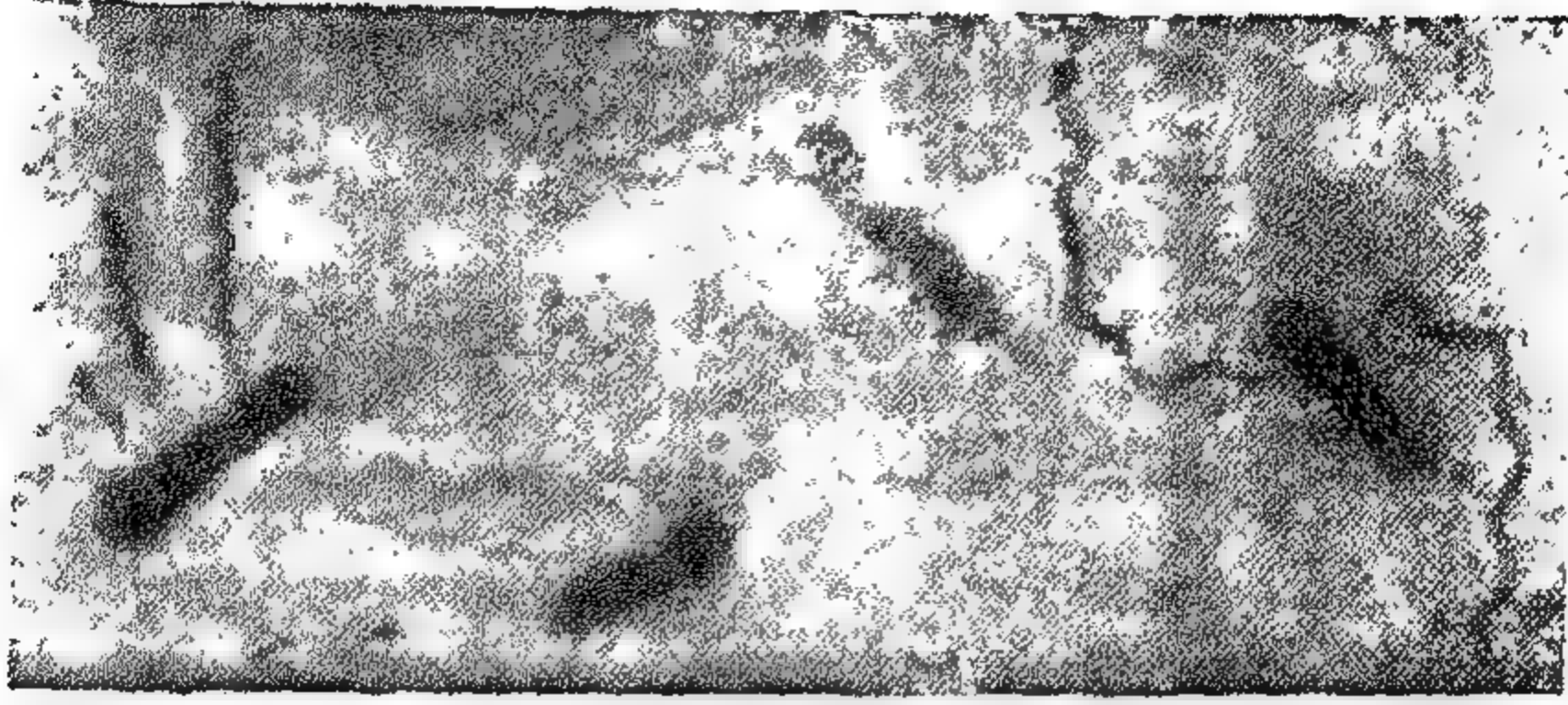
٢ — الخلايا كروية في مكعبات الجنس *Spolorarcina*

جنس — *Bacillus*

بكتيريات عصوية هوائية أو غير هوائية اختيارا . تكون جراثيم داخلية تتحرك عن طريق أسواط جسمية بعض الأنواع غير متحرك الجراثيم الداخلية بيضية أو كروية . موجبة لصبغة جرام . بعض الأنواع تختلف تفاعلها مع هذه الصبغة Gram variable أو سالبة لها . موجبة لاختبار الكاتاليز أنواع هذا الجنس غالبيتها رمية . والبعض منها يصيب الحيوانات والحشرات مسببا لها أمراضا . النوع المثالي *Bacillus subtilis* .

جنس — *Clostridium*

عصويات غير هوائية اجبارا بعضها يتحمل الظروف الهوائية acrotolerant . متجترمة تنتفخ عادة عند مكان الجرثومة مكونة اشكالا صولجانية مختلفة ( شكل ١٦٦ ) متحركة عن طريق أسواط جسمية . أحيانا غير متحركة . عادة موجبة لصبغة جرام . عديد من أنواعها يحلل السكرورز Saccarolytic وذات قدرة تخمرية مرتفعة مكونة الأحماض أهمها حمض الخليك والبيوتريك Butyric acid وغازات هي ك<sub>٢</sub> ، يد<sub>٢</sub> وأحيانا ميثان ( ك يد<sub>٢</sub> ) . كما تكون أيضا عديدا من المواد ذات التأثير المتعادل مثل الاسيتون والكحولات . والبعض الآخر من الأنواع ذات قدرة تحليلية مرتفعة للبروتينات proteolytic . بعض الأنواع ذات قدرة على تثبيت الآزوت الجوى . حيث انها غير هوائية اجبارا فهي لا تنتج الكاتاليز الا في حالة الأنواع المتحملة للظروف الهوائية وهذه تنتج بقلة . القليل من أنواع هذا الجنس محب للحرارة المرتفعة strict thermophiles . كما أن بعض الأنواع



شكل ١٦٦ : خلايا الجنس *Clostridium* (أ، ب) بكتيريا من النوع *Cl. tetanomorphum* خلايا من مزارع قديمة لذلك فهي تحمل عادةً قليلاً من الأسواط (ج) سلالة من البكتيريا *Cl. tertium* أسواطاً جسمية عادية .

يمكنها إفراز سموم داخلية في جسم العائل المصاب بها . أنواع هذا الجنس تتواجد باستمرار في التربة وفي القنوات الهضمية للإنسان والحيوان . النوع المثالي *Clostridium butyricum*

ويضم الجنس *Oscillospira* إلى الجزء الخامس عشر ولكنه لا ينتمي حتى الآن إلى العائلة *Bacillaceae* جنس — *Oscillospira*

يشتمل على نوع واحد هو : *O. guilliermondii* والذي أمكن عزله من القنوات الهضمية لحيوانات التجارب (guinea pigs) والذي يكون جراثيم كبيرة ( ٤ - ٥ × ٢ ميكرون ) وقد تتكون أكثر من جرثومة واحدة في كل خلية من خلايا الخيط .

#### الجزء السادس عشر

#### البكتيريا العصوية غير المتجربة والموجبة لجرام

Gram — Positive و Asporogenous Rod Shaped Bacteria

العائلة *Lactobacillaceae* Family

عصويات مستقيمة أو منحنية — توجد عادة مفردة أو في سلاسل .

غير متحركة — سلالات نادرة متحركة . موجبة لجرام . غير هوائية أو غير هوائية إختياراً . الإحتياجات الغذائية معقدة . على الأقل نصف كربون النواتج النهائية لميتابوليزم الكربوهيدرات يكون حمض لاكتيك . لاتهاجم اللاكتات بطريقة غير هوائية — سالبة للكاتاليز .

#### جنس — *Lactobacillus*

أنواع هذا الجنس عصويات طويلة غالباً مستقيمة . غير متحركة موجبة لصبغة جرام . نادر ما تكون صبغات . إلا أن بعض الأنواع يمكنها أن تنتج صبغات غير قابلة للذوبان في الماء . ذات لون أصفر أو برتقالي أو تظهر مستعمرات بلون طوبى أحمر . لا تسيل الجيلاتين . تنمو بقلّة على بيئة البطاطس تهاجم كل السكريات الأحادية أو الثنائية أو عديدات السكر منتجة نوعين من التخمر : تخمر لاكتيكي ( حمض لاكتيك فقط ) وتعرف الأنواع التي تقوم بهذا النوع من التخمر باسم وحيدة التخمر *homofermenters* أو تخمر لاكتيكي مختلط ( حمض لاكتيك + خليك + كحول — ك ) وتعرف الأنواع التي تقوم بهذا النوع من التخمر مختلطة التخمر *hetcrofermenters* يمكنها أيضاً أن تخترل النترات . بعض الأنواع تنمو جيداً على درجات الحرارة المرتفعة . تنمو بقلّة على سطوح البيئات حيث أنها ميكروايرفيلية وأحياناً لا تنمو إطلاقاً في الأنواع غير الهوائية منها . لا تكون انزيم الكاتاليز . تتواجد بكثرة في المنتجات النباتية والحيوانية المتخمرة وخاصة في منتجات الالبان . والجدول التالي يبين بعض الأنواع .

مختلطة التخمر	احادية التخمر
Heterofermenters	Homofermenters
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus fermenti</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>

ويوجد عدد من الأجناس لم تحدد درجة قرابتها بعد لأحد العائلات ولكنها تنتمي إلى الجزء السادس عشر.

#### جنس — *Listeria*

عصويات صغيرة . متحركة عن طريق أسواط جسمية موجبة لصبغة جرام . تنمو بسهولة على البيئات الغذائية . تخمر الجلوكوز وبعض السكريات الأحادية الأخرى مكونة أحماضا فقط . تحلل الاسكيولين مائيا . تنتج انزيم الكاتاليز فهي هوائية اجبارا . طفيليات ممرضة للحيوانات ذات الدم الحار .

النوع المثالي *Listeria monocytogenes* والمسبب للمرض المعروف باسم Listerellosis في الماشية والأغنام والذي يؤثر على الجهاز العصبي .

#### جنس — *Caryophanon*

خيوطه منحنية قليلا قليلا ( ١٥ — ٣×٢٠ ميكرون ) ذات أسواط جسمية ( شكل ١٦٧ ، ١٦٨ ) تنمو على بيئات خاصة قلوية التأثير ( ذات درجة pH ٧,٨ — ٨ ) تحتوي على مستخلص السماد البلدي وكذلك على البيئات المحتوية على مستخلص الخميرة وذات نفس الدرجة من الـ pH . بكتيريات هوائية ، غير ممرضة يمكن عزلها من براز الماشية . تكون مستعمرات مستديرة قطرها ١-٢ ميلليمتر ذات حواف مموجة . النوع المثالي *Caryophanon lactum* .

#### الجزء السابع عشر

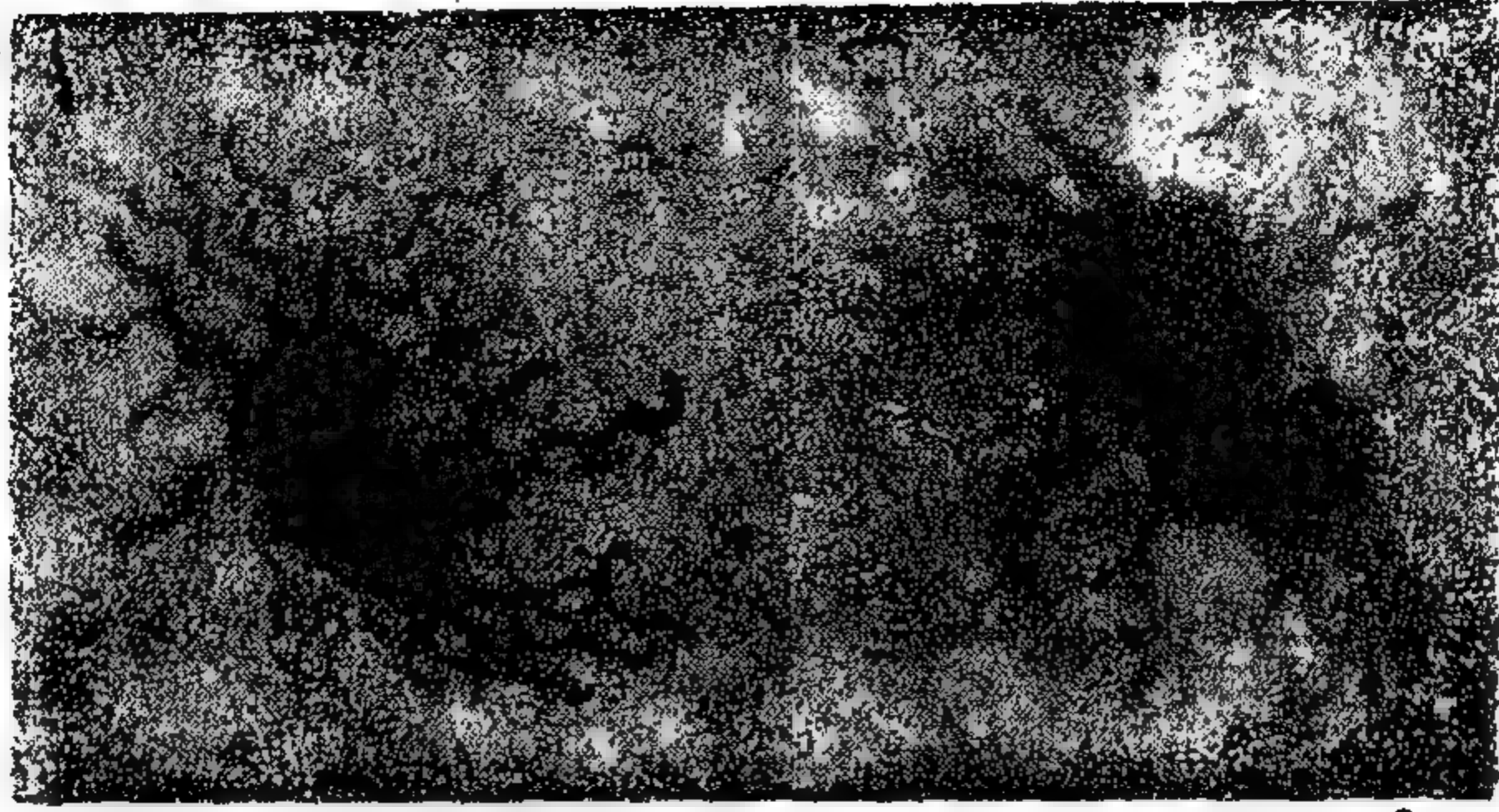
#### الأكتينوميستات والكائنات القريبة منها

#### Actinomycetes and Related Organisms

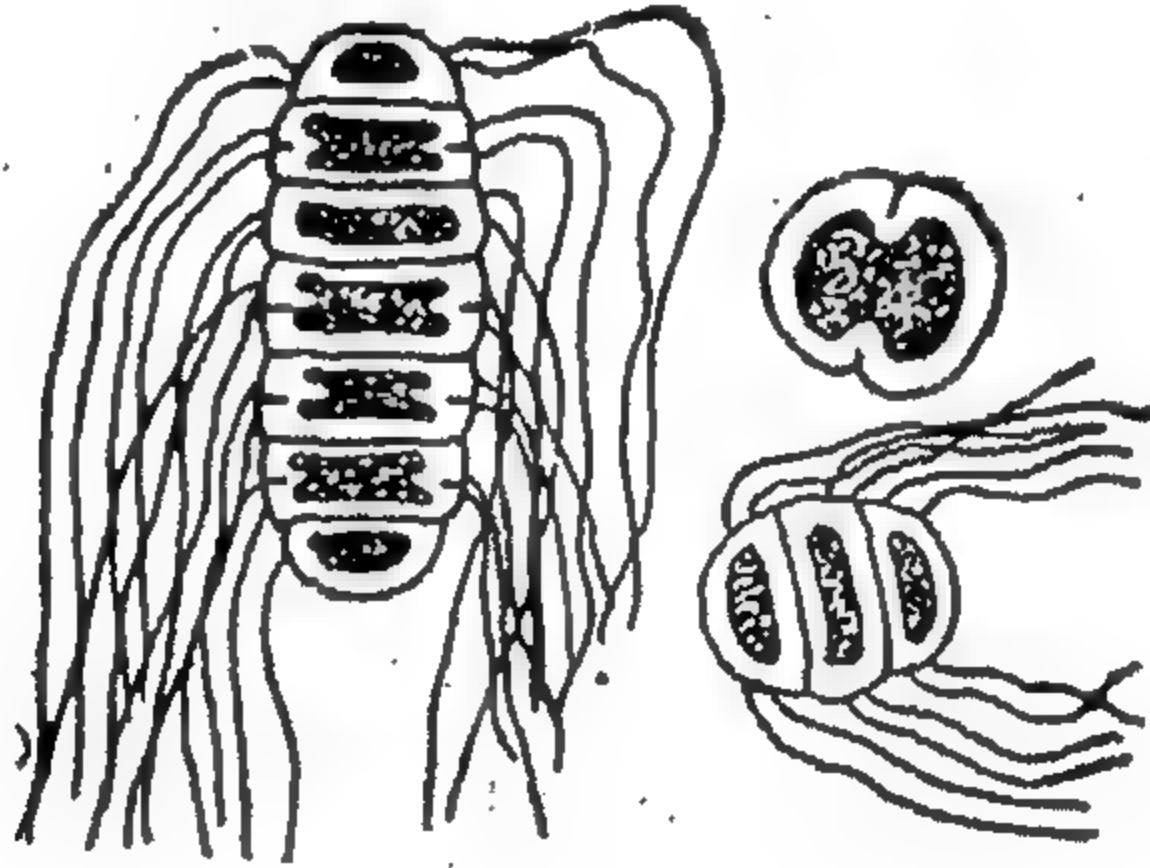
#### جنس — *Corynebacterium*

أنواعه ذات خلايا عصوية قصيرة مستقيمة ( شكل ١٦٩ ) أو منحنية قليلا . تحتوي على حبيبات ميتا كروماتينية وهذه تؤدي إلى عدم انتظام صبغ



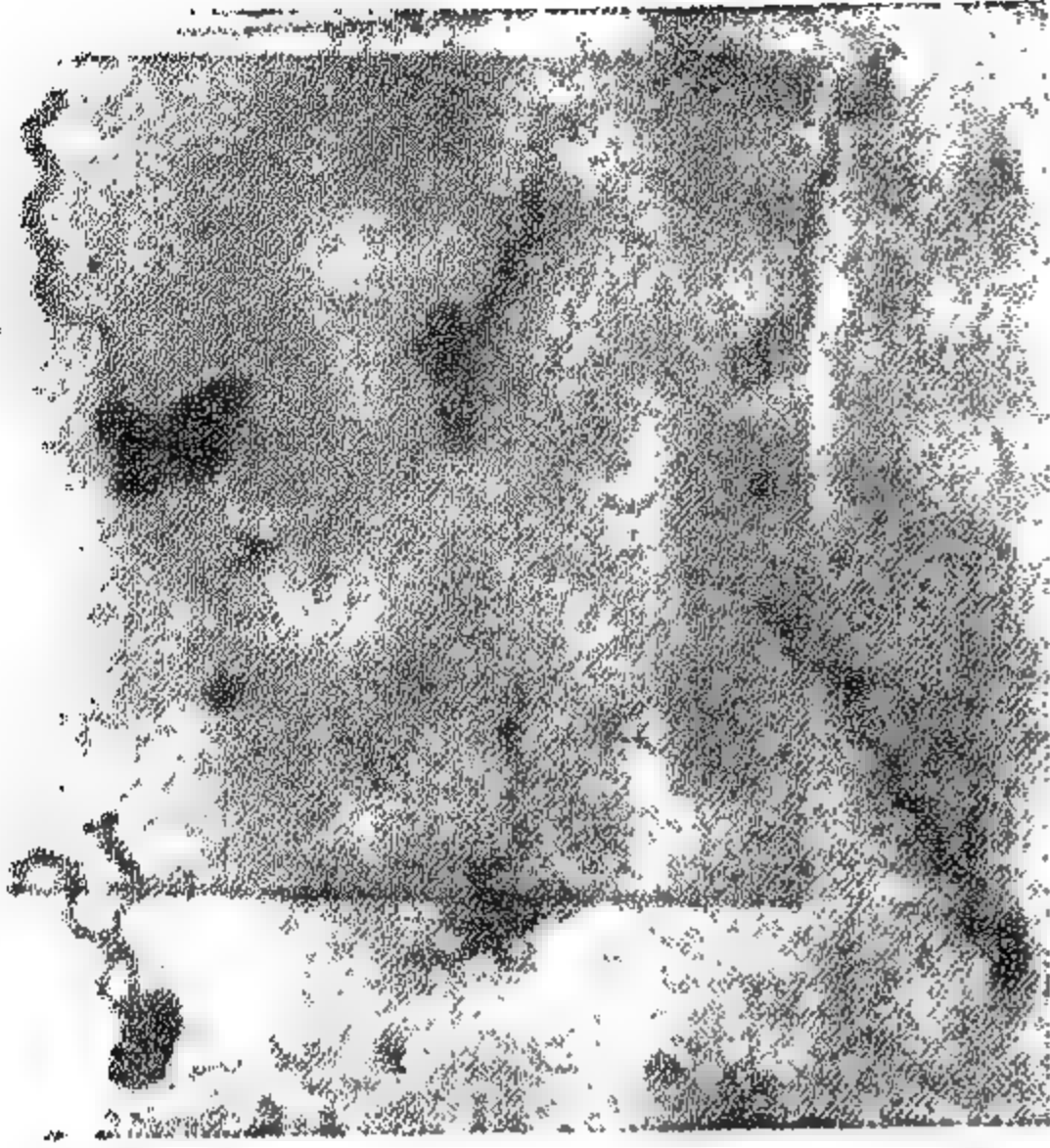


شكل ١٦٧ : صورة ميكروسكوبية لبعض خلايا *Caryophanon lactum* ( أ ) أسواط جسمية ذات تموج عادي . ( ب ) أسواط كثيرة التموج ( تموج غير عادي ) .



شكل ١٦٨ : رسم تخطيطي لبعض خلايا من جنس *Caryophanon* يبين الخلايا القرصية الشكل ذات التراكيب النووية القرصية الشكل أيضاً ، الأسواط الجسمية .

الخلايا . وقد تظهر الخلايا في تجمعات صولجانية منتفخة الشكل يتكون كل منها من ٤ - ٦ خلايا . كما يلاحظ أنه نتيجة للانقسام السريع تتجمع الخلايا متخذة شكلاً عمادياً palisade arrangement ذات زوايا وتعرف هذه التجمعات المميزة للجنس باسم picket fence غير متحركة بالرغم من وجود الأسواط الأثرية تحت الطرفية ( شكل ١٦٩ ) وهي في ذلك تختلف أنواعها الممرضة للنباتات عن باقي البكتيريا الممرضة للنبات . موجبة لصبغة جرام إلا أن الخلايا الحديثة السن أو المتقدمة في السن تفقد صبغة الكريستال البنفسجي بسرعة بمعنى أنها سالبة لصبغة جرام . إلا أن الحبيبات الميتا كروماتية



شكل ١٦٩ : خلايا بعض البكتيريا  
المسببة لأمراض نباتية والتابعة لجنس  
*Corynebacterium* ( أ ، ب ، ج ، د ،  
هـ ) سلالات مختلفة *Corynebacterium*  
*floccumfaciens* ذات تسوط مثالي  
للنوع لا حظ أنه نادراً ما تحمل الخلية الواحدة  
أكثر من سوط واحد تحت طرفي *subpolar*  
( و ) خلية من البكتيريا *Coryne*  
*poinsettiae* تحمل سوطين جسيمين .

بالخلية تكون دائماً موجبة لصبغة  
جرام . بكتيريا هوائية عادة  
موجبة لتفاعل الكاتاليز إلا أن بعض  
الأنواع تحتاج إلى ضغط منخفض  
من الأكسجين *microaerophilic*  
أو غير هوائية إجباراً .

تسيل أو لاتسيل الجيلاتين .  
تخزل أو لاتخزل النترات إلى  
نيتريت . قد تخمر أو لاتخمر السكريات  
ونادراً ما تكون أحماضاً  
بنسبة كبيرة . بعض الأنواع  
تؤكسد الجلو كوز كلية إلى ك<sub>٢</sub>  
وماء بدون إنتاج غازات مرئية ،  
الأنواع الممرضة منها تكون سموماً  
داخلية *endotoxins* .

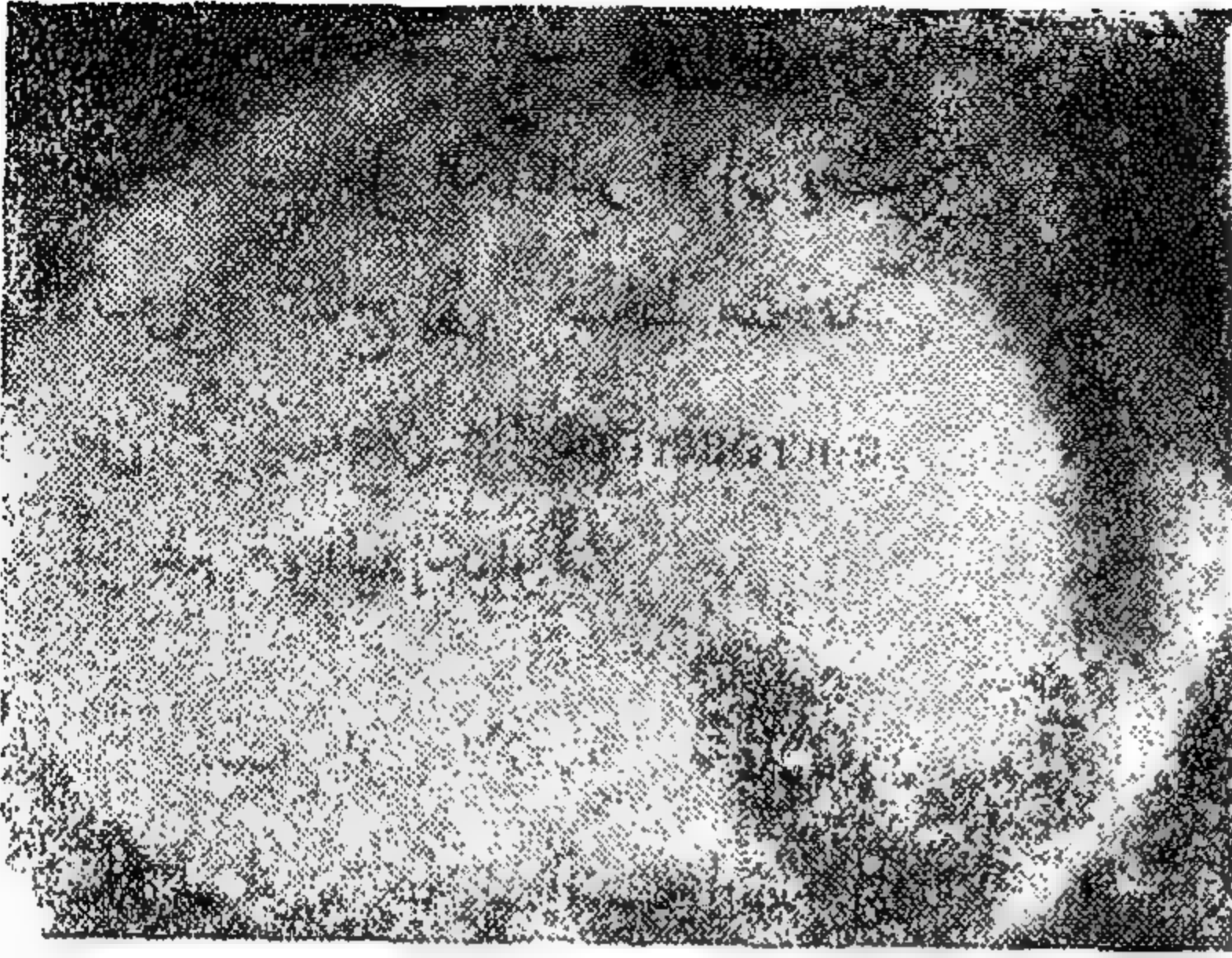
أفراد هذا الجنس منتشرة بكثرة الطبيعة ، والإنواع المعروفة من هذا  
الجنس طفيلية على الإنسان والحيوان والنبات كما وجدت بعض الأنواع  
الأخرى غير الممرضة بأجسام الطيور والحيوانات اللافقرية .

والنوع المثالي *Corynebacterium diphtheria* وهو المسبب لمرض الدفتيريا  
في الإنسان . والعديد من أنواعها يصيب النباتات مسبباً أمراضاً مختلفة ومن  
أمثلها ما يأتي :

*Corynebacterium sepedonicum* المسبب لمرض التعفن الحلقي بالبطاطس  
( شكل ١٧٠ )

*Corynebacterium michiganense* المسبب لمرض التقرح في البطماطم ( شكل ١٧١ )  
*Corynebacterium faciens* المسبب لمرض التورم الورقي للعديد من النباتات





شكل ١٧٠ : قطاع في درنة بطاطس مصابة بمرض  
التعفن الحلقى المتسبب عن البكتيريا  
*Corynebacterium sepedonicum*



شكل ١٧١ : قطعة من ساق نبات ضاظم  
مصابة بمرض التقرح البكتيري المتسبب عن  
البكتيريا  
*Corynebacterium michiganense*  
إلى اليمين مقطع طولي في الساق المصاب  
لاحظ تلون الاسطوانة الزرقائية .

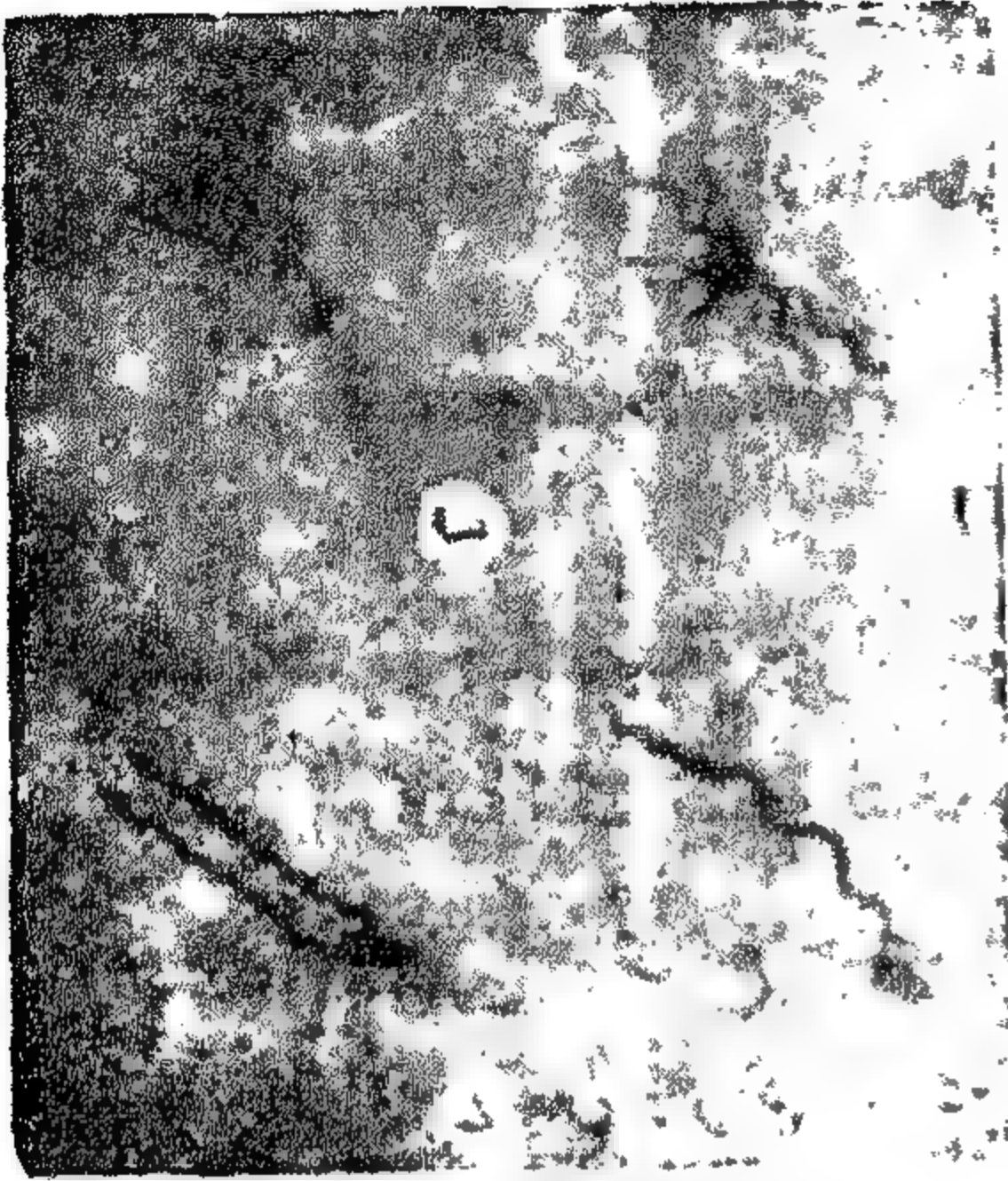
#### جنس — *Brevibacterium*

بكتيريات عصوية قصيرة . غير متحركة . بعض الأنواع تفرز أصباغا  
لتظهر المستعمرات باللون الأحمر أو الأحمر البرتقالي أو الأصفر أو البني  
وهذه الأصباغ غير قابلة للذوبان في الماء . وعندما تنمو في بيئة تحتوي على  
جلوكوز تخمره مع إنتاج أحماض فقط . لا تخمر اللاكتوز وقد تختزل النترات  
إلا أن بعض الأنواع لا تختزلها . بعض الأنواع لها قدرة على تحليل البروتينات .  
بكتيريات هوائية أو غير هوائية اختيارا .

تتواجد في مشجعات الالبان وفي التربة وفي المياه العذبة والملحية والنوع  
المثالي للجنس هو *Brevibacterium linens* .

#### جنس — *Cellulomonas*

تشمل بكتيريات ذات اشكال مورفولوجية غير ثابتة pleomorphic .  
قد تظهر عصوية مستقيمة أو منحنية ذات زوايا . خلاياها مستديرة أو



شكل ١٧٢ : لوحة لخلايا من الجنس

*Cellulomonas rossica* (أ)

أسواط عادية جسمية (ب) *C. bibula* أكثر

خلاياها تحمل سوطاً واحداً جسيماً شديداً التموج

(ج) *C. perlurida* سوط واحد جسمى

ذو تموج عادى فى قاعدته وتموج غير عادى

قريب قته (tiplicity) (د) سلاطة

من البكتيريا *C. perlurida* تحمل أسواط

جسمية طويلة شديدة التموج .

صولجانية أو متفرعة أو كروية .  
ودرجة الاختلاف فى الشكل تعتمد  
على عمر الخلايا وكذلك على الظروف  
البيئية النامية عليها . متحركة عن  
طريق واحد أو أكثر من الأسواط  
الجسمية (شكل ١٧٢) بعض الأنواع  
غير متحركة إطلاقاً . وعادة عندما  
يتواجد سوط واحد يكون وضعه  
طرفياً أو تحت طرفى . ذات تفاعل  
مختلف (variable) مع صبغة  
جرام . نموها ضعيف على البيئات  
الغذائية يمكنها إفراز صبغة صفراء  
غير قابلة للذوبان فى الماء  
تسيل الجيلاتين ببطء شديد . موجبة  
لاختبار الكاتالز . تخمر الكربوهيدرات  
مكونة أحماضاً فقط . يمكن عزلها

من التربة أو من النباتات . يهاجم السيلوز بدرجة واضحة النوع المثالى

*Cellulomonas biazotea* .

ومن الأجناس الأخرى التى تشملها هذه العائلة :

جنس *Kurthia* -

عصويات طويلة ذات أطراف مستديرة نوعاً ما . عندما تنمو فى  
البيئات الغذائية السائلة تترتب الخلايا فى سلاسل منحنية انحناءات منتظمة .  
وعندما تنمو فى بيئة الجيلاتين تتكون هذه السلاسل أو الخيوط ثم تنقسم إلى  
وحدات كروية صغيرة coccoid . خلاياها غير مغلفة . بعضها يتحرك

بأسواط جسمية . لا يمكنها تحليل أو مهاجمة المواد الكربوايدراتية . غير هوائية اختيارا. تتواجد في المواد المتحللة ( رميات ) . النوع المثالي *KurthiaZopfi*

#### العائلة — Family *Propionibacteriaceae*

عصويات موجية لصبغة جرام غير متحركة . تشمل الأجناس التي تنتج حمض البروبيونيك نتيجة لتخميرها للكربوايدرات كما أن لها القدرة على تكوين أحماض أخرى مع حمض البروبيونيك وغاز ثاني أكسيد الكربون وأفرادها تتراوح بين أفراد تحتاج إلى ضغط منخفض من الأكسجين *microaerophilic* إلى أفراد غير هوائية اجبارا .

#### جنس — *Propionibacterium*

أنواعه غير متحركة . غير متجربة . موجبة لصبغة جرام . عندما تنمو في بيئات متعادلة ( pH ٧ ) تحت ظروف غير هوائية تتجمع الخلايا العصبوية القصيرة لتعطى مظهرا خيطيا يعرف باسم *diphtheroids* . والذي يشبه إلى حد ما تجمع خلايا البكتيريا *Streptococci* وتحت الظروف الهوائية وعندما تلقح البيئة بكمية كبيرة من اللقاح فان الخلايا تتكاثر متخذة مظهرا عصويا طويلا غير منتظم أو صولجاني الشكل وأحيانا تميل الخلايا إلى التفرع الكاذب .

عندما تصبغ الخلايا بصبغة البرت *Albert* فانه يمكن صبغ الحبيبات الميتا كروماتينية بالخلايا الفردية . يمكن لأنواع هذا الجنس أن تخمر الكربوايدرات وتنتج حمض لاكتيك كما أنها لا تخمر الكحولات عديدة المحاميع الهيدروكسيلية *polyhydroxy alcohols* منتجة لحمض البروبيونيك وحمض الحليك وثاني أكسيد الكربون . وكقاعدة عامة تنتج خلايا جميع الأنواع انزيم الكاتاليز بالرغم من أن بعضها ينتجه بقله ملحوظة . أنواع هذا الجنس لها ميل شديد للنمو في غياب الهواء حيث يمكن مشاهدة مستعمراتها الكبيرة نوعا والتي تظهر على البيئات الغذائية في غياب الهواء خلال ٥ — ٧ أيام . تتميز هذه



الأنواع بتعدد احتياجاتها الغذائية . فهي تنمو جيدا في البيئات المحتوية على مستخلص الخميرة في وجود كربوهيدرات أو حمض اللاكتيك أو أملاحه . احتياجاتها من الفيتامينات وخاصة مجموعة « ب » بسيطة نسبيا . فكل الأنواع تتطلب حمض البانتوثينيك Pantothenic acid وغالبية تحتاج إلى البايوتين biotin إلا أن بعض الأنواع القليلة منها تحتاج علاوة على الفيتامينين السابقين إلى كل من الثايمين thiamin أو حمض الباراك - امينوبنزويك . درجة الحرارة المثالية لنمو أنواع هذا الجنس ٣٠°م . تتواجد في منتجات الألبان وبخاصة اللبن الجاف والنوع المثالي للجنس هو

*Protonibacterium freudenreichii*

#### رتبة الاكتينومييسيتات Order Actinomycetales

أفراد هذه الرتبة تتميز بتكوين خلايا مستطيلة ذات ميل إلى التفرع الحقيقي والتي تشبه كثيرا هيفات الفطريات إلا أنها تتميز عنها بدقة حجمها حيث لا يزيد قطرها عن ١,٥ ميكرون وفي المتوسط ١ ميكرون أو أقل وغالبية موجبة للصبغ المقاوم للأحماض . أفراد أحد عائلاتها أعني *Mycobacteriaceae* ذات ميسيليوم أثرى أو غائبا ولا تكون جراثيم من أى نوع . وفي العائلات الأخرى من هذه الرتبة يتكون ميسيليوم متفرع ويمكن أن تتكون جراثيم معينة يطلق عليها أسماء عديدة منها *oidiospores* أو *conidia* أو *sporangiospores* . كما أن بعضها يمكنه أن يكون جراثيم بطريقة خاصة نتيجة لتجزؤ الهيفات المستقيمة أو المنحنية والتي تعرف حينئذ بالهيفات الحاملة للجراثيم *spore bearing hyphae* والجراثيم الكونيدية أو *oidiospores* تتكون عادة عن طريق تكوين جدر عرضية تقسم الهيف إلى أجزاء متساوية أو بمعنى آخر تتكون بنفس الطريقة التي تتكون بها مثل هذه الجراثيم بالفطريات الحقيقية . وقد تتكون الكونيديات مفردة على نهاية حامل كونيدى بسيط أو متفرع . والجراثيم *sporangiospores* تكون عادة محمولة بداخل كيس مستدير أو متخذة أشكالا غير محدودة تعرف باسم *sporangium* . وقد

ذكر أن بعض أنواع الجنس *Nocardia* التابع لأحد عائلات هذه الرتبة يمكنه الحركة عن طريق أسواط جسمية ( شكل ١٧٤ ) كما أن أفراد العائلة *Aciinoplanceae* وجد أنها تكون أيضا جراثيم سوطية *Sporangiospores* تمتلك سوطا طرفيا واحدا يساعدها على التحرك في البيئة السائلة النامية عليها إلا أن الجراثيم التي تكونها أفراد العائلات الأخرى تكون عادة غير متحركة .

والتركيب الخلوي للأكتينومييسيتات عموما يشبه إلى حد كبير تركيب الخلايا البكتيرية إلا أن جدرها الخلوية ليست مكونة من السليولوز أو الكايتين فهي بهذا تختلف عن الفطريات الحقيقية . القليل من أفراد الرتبة أفراد ممرضة للإنسان والحيوان والنبات ، إلا غالبيتها تتواجد طبيعيا بالتربة وبدرجة أقل في المياه العذبة .

والصفة المميزة للكائنات المدرجة برتبة الأكتينومييسيتات هي قدرتها على التفرع الحقيقي والذي يشاهد بوضوح في كل أنواع الرتبة . كما أنها لا تكون جراثيم داخلية مثل التي تكونها أفراد عائلة *Bacillaceae* التابعة للبكتيريا الحقيقية ، ولكنها تكون جراثيم تشبه تلك التي تكونها الأعفان والفطريات . والنمو الخلوي المتفرع ( الميسيليوم ) وكذلك طريقة تجرثم هذه الكائنات قد يبين مدى القرابة بينها وبين الفطريات فهي لذلك تعرف بأنها بكتيريا شبيهة بالفطريات . ومن ناحية تشابهها للبكتيريا فهذه الكائنات تعتبر ذات قرابة بالبكتيريا الحقيقية الموجبة لصبغة جرام وغير المتجرثمة وبخاصة العائلة *Corynebacteriaceae* . وتشتمل هذه الرتبة على الأربع عائلات التالية

#### عائلة — *Family Mycobacteriaceae*

أفراد هذه العائلة تظهر تفرعا أثريا أو تفرعا غير حقيقي وقد يكون التفرع معدوما تشتمل هذه العائلة على الجنسين التاليين .

#### جنس — *Mycobacterium*

وهو أهم أجناس العائلة . تتميز خلايا أنواعه بأن لها صفات الخلايا

العصوية من البكتيريات الحقيقية حيث تبدو خلاياها عصوية مستقيمة غير متحركة ذات حدود غير منتظمة وذلك في التحضيرات المثبتة والمصبوغة ( وقد يرجع عدم الانتظام إلى عمليات التثبيت الحرارى ) . موجبة لصبغة جرام . وموجبة للصبغ المقاوم للأحماض وهو من الصفات المميزة للجنس . وأحيانا تتواجد في مجاميع بشكل خيوط أو سلاسل . ونادرا ما يظهر بها تفرعات . لا تكون أى نوع من الجراثيم . النوع المثالى هو *Mycobacterium tuberculosis* المسبب لمرض السل فى الإنسان والحيوان كما يشمل الجنس نوعا ممرضا آخر هو *M. leprae* ، المسبب لمرض الجذام Leprosy فى الإنسان . باقى أنواع الجنس رميات بعض منها له القدرة على افراز اصباغ غير قابلة للذوبان فى الماء . ومن الصفات المميزة لأنواع هذا الجنس كثرة احتواء خلاياها على المواد الشمعية أو الدهنية وبخاصة mycolic acid المسئول عن الإيجابية فى الصبغ المقاوم للأحماض .

#### عائلة — Family Actinomycetaceae

تتميز أفراد هذه العائلة بتكوين ميسيليوم حقيقى والذى يتجزأ فى الأطوار المتأخرة من النمو إلى أجزاء fragments عصوية أو دائرية تعمل على تكاثر الكائن . معظم أفراد هذه العائلة رميات تعيش بالتربة لها قدرة كبيرة على تحليل عديد من المواد . وتتكون العائلة من جنسين هامين هما :

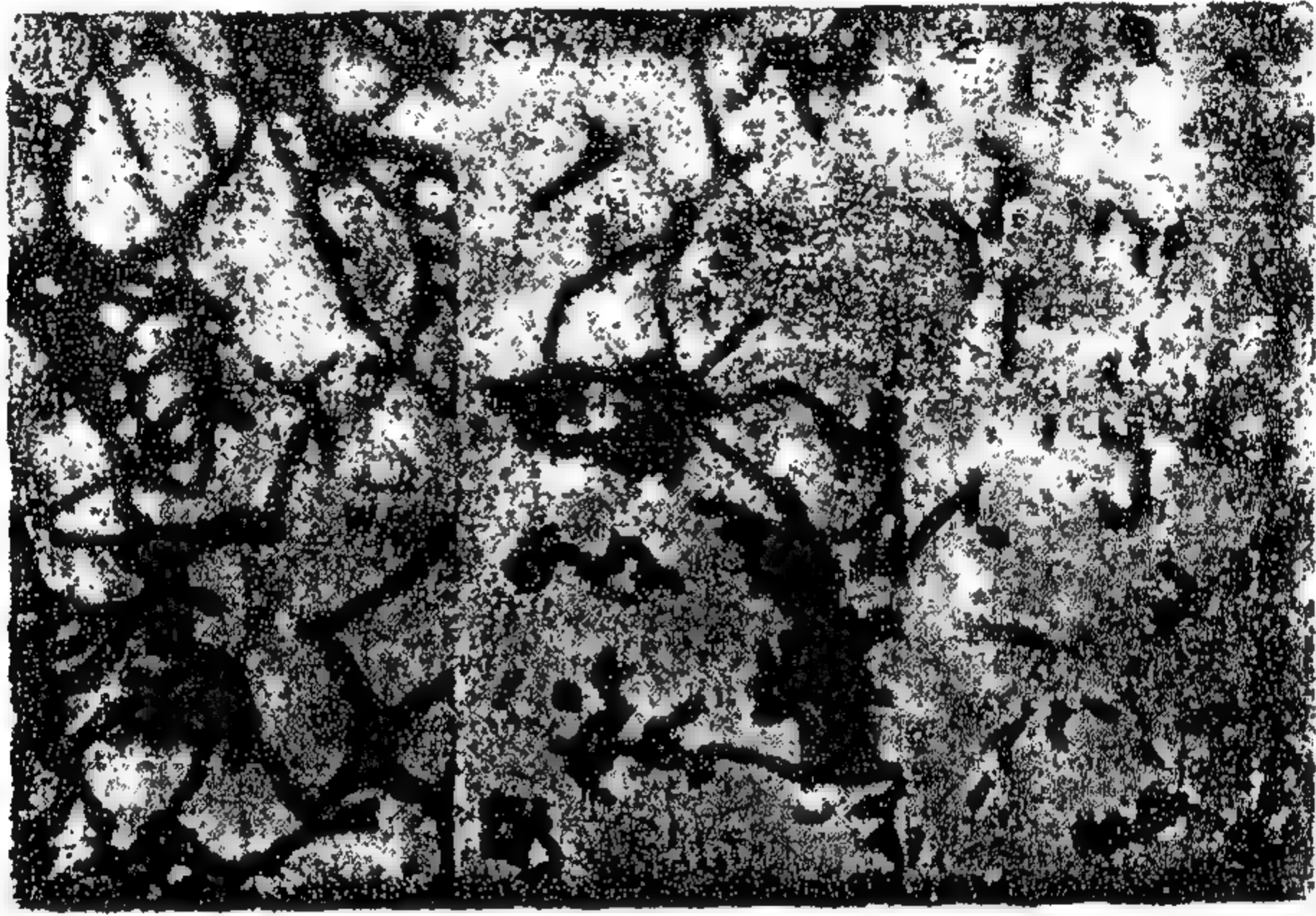
#### جنس — Actinomyces

أنواعه ذات ميسيليوم حقيقى متفرع . لا يكون كونيديات بل يتكاثر عن طريق التجزؤات الطرفية للهيفات . سالب للصبغ المقاوم للأحماض . غير هوائى ويتطلب ضغطا منخفضا من الأكسجين microaerophilic يصعب تنمية خلاياه على البيئات الصناعية فهى تتطلب احتياجات غذائية معقدة نواعه بعضها ممرضة للإنسان والحيوان يسبب إصابات تعرف باسم actinomycoses كمرض الفك المشوه فى الماشية Lumpy Jaw النمل المثالى *Actinomyces bovis*

العائلة — *Nocardiaceae*

جنس — *Nocardia*

خيوط اسطوانية أو عصويات مستقيمة . عادة منتفخة وأحيانا متفرعة  
مخزنية ليسيليوم . عندما تصل الهيفات إلى حجم معين يبدأ في التجزؤ لتعطي  
خلايا صغيرة قريبة الشبه بخلايا البكتيريات الحقيقية (شكل ١٧٣) كما يمكن



شكل ١٧٣ : لوحة تحتوي ثلاث صور لسلا لات من البكتيريا *Nocardia asteroides* تظهر مدى الاختلاف في الشكل المورفولوجي .

ملاحظة خلايا عصبوية قصيرة أو ذات مظهر دائري في المزارع القديمة  
لا تكون جراثيم كونيديية ، أحيانا تظهر درجات متفاوتة من الإيجابية  
للصبغ المقاوم للحمض . موجبة لصبغة جرام . تعطي مستعمرات على البيئات  
الصلبة تشبه من الناحية الظاهرية مستعمرات جنس *Mycobacterium* يمكنها  
استعمال المواد الهيدروكربونية مثل البارافين والفينول والكريزول ويستغلها  
كمصدر للطاقة . بكتيريات هوائية . بعض أنواعها متحرك بأسواط جسمية (شكل  
١٧٤) بعض الأنواع ممرضة للإنسان والحيوان *N. asteroides* تسبب  
حالات مرضية تشبه السل تعرف بالـ *Nocardiosis* ولكن غالبيتها رميات  
تعشش ، بالتربة . النوع المثالي *Nocardia farcinica*



عائلة —

Family Streptomycetaceae



شكل ١٧٤ : خلية من جنس *Nocardia* sp. تحمل أسواطاً جسميات  
تموجات غير منتظمة .

يمكن لأفراد هذه العائلة أن تكون ميسيليومات حقيقية أيضاً ولكنها تختلف عن العائلة السابقة في أن هيفاتها لا تتجزأ ولكن يتكون على نهاياتها جراثيم تعرف بالكونيديات تحمل منفردة أو في سلاسل مستقيمة أو منحنية أو تحمل على حوامل كونيدية قصيرة ( شكل ١٧٥ ) . وهذه الطريقة من التكاثر ( عن طريق الكونيديات ) تشبه إلى حد كبير طرق التكاثر التي تتميز بها الأعفان أو الفطريات . بعضها

يتحمل الحرارة المرتفعة والبعض الآخر لا يتحملها . أفراد هذه العائلة اكتسبت شهرة حيث أن بعض أفرادها تتميز بإفراز المضادات الحيوية .

جنس — *Streptomyces*

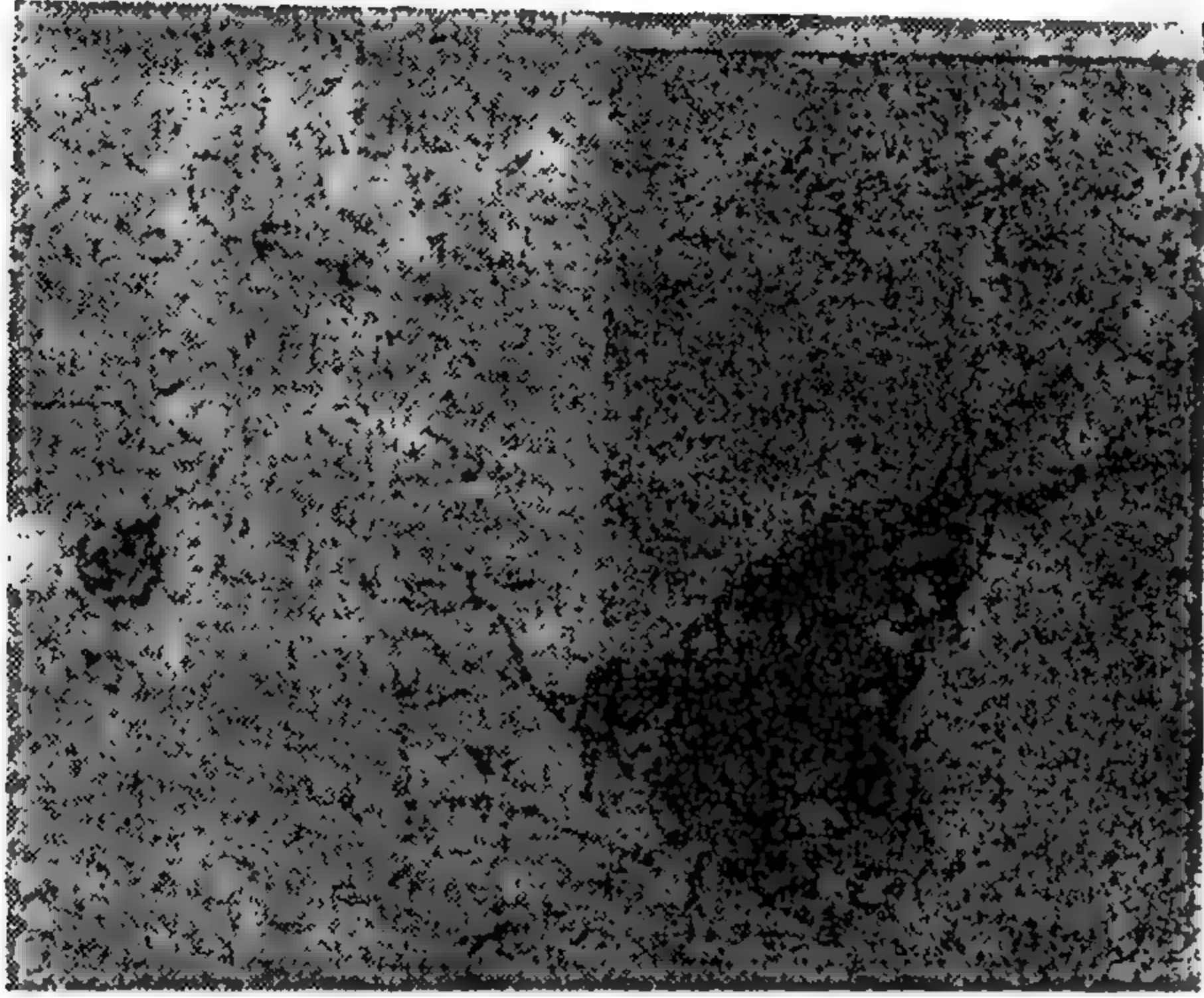
يكون ميسيليوما متفرع بكثرة يكون هيفات هوائية aerial mycelium تتكون الجراثيم الكونيدية في سلاسل ( شكل ١٧٥ ) . أفراد هوائية . يعيش معيشة ترممية بالتربة بعض أنواعه متطفل على النباتات مثل *Streptomyces scabies* ( شكل ١٧٦ ) المسبب لمرض الجرب في البطاطس و *Streptomyces ipomoeae* المسبب لجرب البطاطا . يشتمل هذا الجنس على عديد من الأنواع التي تستغل في إنتاج المضادات الحيوية النوع المثالي *Streptomyces albus* .

العائلة *Micromonosporaceae*

جنس — *Micromonospora*

أفراد هذا الجنس تكون ميسيليوما متفرعا إلا أنها تحمل كونيديات





شكل ١٧٥ : صورة تبين التفرعات وطريقة تجرثم أحد أنواع الجنس *Streptomyces*.



شكل ١٧٦ : درنات بطاطس مصابة بالجرب العادى المتسبب عن *Streptomyces scabies*

مفردة على نهاية حامل كونيدي قصير (شكل ١٧٧) أفرادها لا يمكنها النمو على درجات الحرارة المرتفعة التي تتراوح بين ٥٥-٦٥°م .

جنس — *Thermoactinomyces*

تشبه أنواعه تلك التابعة للجنس السابق الا أنها تتمكن من النمو على درجات



شكل ١٧٧ : جنس *Micromonospora*  
لا حفر التفرع الا حادى للهيئات الحاملة  
للكونيدات الفردية .

الحرارة المرتفعة ( بين  $^{\circ}55$  —  $^{\circ}65$  م )

عائلة — *Family Actinoplanaceae*

تشمل هذه العائلة أفراداً مائية من الأكتينومييسيتات تم وصفها ودراستها حديثاً وتختلف عن أفراد العائلات الأخرى فى هذه الرتبة فى الطريقة التى تكون بها جراثيمها وكذلك فى طبيعة الجراثيم المتكونة. فأفراد هذه العائلة تكون أكياساً جرثومية (*Sporangia*) وهو تركيب يحتوى الجراثيم السوطية ( فى قمة الهيفات. وعندما يصل إلى طور معين

من النمو تنطلق من الأكياس الجرثومية جراثيم عصوية الشكل ذات أسواط طرفية بمعنى أنها متحركة تسبح فى البيئة المائية التى تعيش بها. والجنسين التاليين *Actinoplanes* و *Streptosporangium* يتبعان هذه العائلة .

### الجزء الثامن عشر

رتبة الريكيتسيايات *Order Rickettsiales*

تعرف الكائنات التابعة لهذه الرتبة باسم الريكيتسيايات *Rickettsia* تخليداً لذكرى Taylor Rickett والذي قام بوصف هذه الكائنات لأول مرة عام ١٩٠٩ عند فحصه لدم حشرات القمل المتغذى على جسم انسان مصاب بمرض التيفوس . وكان أيضاً أول من وصف الصور العصبوية من هذه الكائنات والى تتواجد فى دم الانسان المصاب بالحمى المعروفة باسم حمى جبال روكى *Rocky-Mountain spotted-fever* ومن الجدير بالذكر أن Taylor

Rickett قدمات نتيجة لإصابته بمرض التيفوس الذى اكتشف مسببه .

والريكتيزيات هي طفيليات اجبارية داخلية (intracellular) تعيش داخل خلايا الحشرات مثل القمل ، والبراغيث ، والقراد ، والعناكب والكثير منها يسبب أمراضا للانسان والحيوانات الأخرى تنقل عن طريق الحشرات ، الثاقبة الماصة السابقة الذكر . ولما كانت الريكتيزيات تتميز ببعض صفات البكتيريات وكذلك ببعض صفات الفيروسات لذلك فهي تشغل مركزا وسطياً بينهما . فهي تشبه البكتيريات في بعض صفاتها المورفولوجية وفي كونها لا تمر خلال المرشحات البكتيرية التى تحجز الخلايا البكتيرية ، وهى سالبة لصبغة جرام كما أنها تصطبغ بقلة بالصبغات الانيلينية . وتظهر خلايا الريكتيزيا بأشكال مختلفة مورفولوجيا pleomorphic عندما تتواجد في خلايا العائل (سواء في الذواه أو السيتوبلازم) .

وتشبه الفيروسات في كونها طفيليات اجبارية داخل الخلايا الحية وفي عدم القدرة على تنميتها في البيئات الغذائية بعيدا عن خلايا العائل الحية .

وتتكون خلايا الريكتيزيات غير القادرة على الحركة من مادة متجانسة حبيبية المظهر تشبه كثيرا سيتوبلازم الخلايا البكتيرية . كما لا يمكنها انتاج ، جراثيم من أى نوع كما أنها تهلك سريعا من تأثير الحرارة ، والجفاف والمطهرات الكيماوية العادية .

ويمكن الاستدلال على الأهمية الاقتصادية للريكتيزيا مما هو معروف عن تأثير وباء الحمى التيفوسية على البشرية في العصور المختلفة . ويتسبب هذا المرض عن نوع من الريكتيزيا يعرف باسم *Rickettsi prowazakii* والذى ينتقل من جسم الانسان المصاب إلى الآخر السليم عن طريق حشرات القمل . وعادة يلزم هذا الوباء الكوارث الأخرى التى تلم بالبشرية مثل الحرائق ، والمجاعات ، والحروب ، وليست كل الريكتيزيات ممرضة pathogenic ، فقد أمكن مشاهدة مجموعة كبيرة منها في أجسام الحشرات وليس لها دور في



إحداث الأمراض للإنسان أو الحيوانات الثديية الأخرى . كما أنها لا تسبب  
أى ضرر للحشرات العائلة لها . أفراد هذه المجموعة غير ممرضة nonpathogenic  
وتقسم هذه الكائنات تحت الريكيتزيات فقط لتركيبها المورفولوجى المميز .  
بعض الصفات المورفولوجية للريكيتزيات

خلايا الريكيتزيات يتراوح طولها بين ٣ - ٢ ميكرون وعرضها بين  
٣ - ٥ ميكرون . ويعتبر النوع *R. prowazakii* أصغرها حجماً . والنوع  
*R. tsutsugamushi* أكبرها حجماً . ولا يمكن لأيهما أن يمر خلال المرشحات  
البكتيرية والتي تسمح بمرور جزيئات الفيروس مثل مرشح زيتز Seitz filter  
الذى تستعمل فيه أقراص الاسبستس أو مرشح بير كيفيلد Berkefeld والذى  
يستعمل فيه شمعة مصنوعة من التربة الدياتومية diatomaceous earth أو مرشح  
شمبر لاندباستير Chamberland-Pasteur الذى تستعمل فيه أقراص  
مصنوعة من مادة البورسلين Porcelain

ومتوسط قطر الثقوب الخاصة بهذه المرشحات يتراوح من واحد إلى عدة  
ميكرونات . ويتوفر بالأسواق حالياً عدد من المرشحات التى تختلف فى أقطار  
ثقوبها . وجدير بالذكر أن هذه المرشحات لا تعمل فقط فى منع مرور الخلايا  
البكتيرية أو خلايا الريكيتزيا من الناحية الميكانيكية . بمعنى أن ضيق مسامها  
ليس الوسيلة الوحيدة فى منع مرور هذه الكائنات ولكن هناك عوامل أخرى  
تتحكم فى عملية الترشيح مثل الشحنات الكهربائية للمرشح نفسه وكذلك  
الشحنات الكهربائية المحمولة على وحدات الكائنات المحبوزة كما أن لطبيعة  
السائل المرشح دور أيضاً فى كفاءة المرشح فى منع مرور البكتيريا والريكيتزيات

هذا والأغشية المعروفة باسم المرشحات الجزيئية molecular filters  
التي تعرف أيضاً باسم Millipores filter membranes تعتبر أيضاً نوعاً خاصاً  
من المرشحات البكتيرية التى تحجز خلايا البكتيريا والريكيتزيات بكفاءة فائقة  
لما لها من ثقوب ضيقة ومنظمة . ومن المعتاد عند استعمال كل هذه المرشحات

يشترط جذب المحلول المراد ترشيحه خلال المرشح بسحب الهواء أو إجراء درجة من التفريغ في ورق الترشيح لتسهيل وإسراع مرور الراشح وللحصول على التفريغ اللازم تستعمل مضخات مائية أو ميكانيكية وعموما تعتبر طرق الترشيح هذه من الطرق التعقيم الممتازة .

والريكتيزيات تتميز بأشكالها الكروية العصوية coccobacillary ولكنها قد تتواجد أيضاً في أزواج diplobacilli تشبه إلى حد ما البكتيريا pneumococci . وأحيانا تظهر الأشكال الكروية cococid في سلاسل طويلة. ولما كانت الريكتيزيات مختلفة في أشكالها المورفولوجية لذلك فإن هذه الصفات أعنى شكل وحجم الخلايا ، لا يمكن الاعتماد عليها كوسيلة من وسائل التعرف ومما هو جدير بالذكر أن صبغة الجيمسا Geimsa من أفضل الصبغات في صبغ هذه الكائنات .

والطرق المتبعة في عزل الريكتيزيات والتعرف عليها تعتمد كثيرا على تنميتها في أجسام حيوانات التجارب أو في الأغلفة المحيطة بصفار بيض الدجاج المتخصب fertilized egg yold-sacs ، أو في مزارع الأنسجة tissue culture والكائنات المتحصل عليها بأحد هذه الطرق يمكن التعرف عليها بالطرق السيرولوجية .

وتبعاً للطبعة الجديدة (١٩٥٧) من مرجع بيرجى لتقسيم وتصنيف ، البكتيريات . فإن رتبة الريكتيزيات Or. Rickettsiales تشمل ثلاث ، عائلات : الأولى Fam. I Rickettsiaceae تحمل أفرادها بداخل الحشرات والعناكب . الثانية Fam II Clamydozoaceae وأفرادها لا تنتقل عن طريق الحشرات وتشبه أفرادها الفيروسات بدرجة قد تؤدي إلى عدم القدرة على تمييزها . والثالثة Fam. III Bartonellaceae والتي يمكن لبعض أفرادها أن تنتقل عن طريق الحشرات والبعض الآخر لا ينتقل عن هذا الطريق . وسوف



نتناول باختصار تقسيم العائلة الأولى *Rickettsiaceae* لأهميتها . وهذه تصنف إلى ثلاثة فصائل كما يلي :

١ — فصيلة *Tribe I Rickettsieae* :

والتي تتميز بخلايا مختلفة مورفولوجيا *Pleomorphic* ، تعيش غالباً داخل خلايا العائل *intracellular* ، تتواجد في أجسام الحشرات . بعضها ممرض للحيوانات الفقرية وتشمل الأجناس التالية :

جنس — *Rickettsia* :

خلاياه ينطبق عليها صفات العائلة . تتواجد في سيتوبلازم خلايا القمل والبراغيث والقراد والعناكب ، وأحيانا تتواجد خارج الخلايا في تجويف أمعاء الحشرات . لم يمكن تنميتها على البيئات الغذائية بعيدا عن الخلايا الحية . لا تمر من المرشحات البكتيرية . ممرضة للإنسان .

جنس — *Coxiella* :

خلاياه تشبه السابقة إلا أن بعضها يمكنه المرور خلال المرشحات .

٢ — فصيلة *Tribe 2 Ehrlichieae* :

خلايا كروية دقيقة جدا أو مختلفة في الشكل المورفولوجي . ممرضة ، لبعض الحيوانات الثديية وليست ممرضة للإنسان . تتواجد في أجسام الحشرات وبعض الحيوانات اللافقرية . وتشمل ثلاثة أجناس :

جنس — *Ehrlichia* :

خلايا كروية أو مختلفة الشكل المورفولوجي تتواجد في سيتوبلازم خلايا بعض الحيوانات الثديية . تسبب أمراضا معينة للكلاب والماشية والأغنام ، وتنقل عن طريق القراد . *Cowdria* و *Neorickettsia* .

٣ - فصيلة Tribe 3 - Wolbachieae

خلايا كروية أو عصوية الشكل ، وأحيانا خيطية . يمكنها أن تتطبع على النمو في أجسام الحشرات لتعيش بها معيشة تبادل منفعة . وتشمل اثلاث أجناس التالية :

جنس - *Wolbachia* :

خلايا مختلفة الشكل المورفولوجي تراوح بين الكرويات الصغيرة إلى الأشكال الخيطية . تعيش عادة داخل الخلايا إلا أنه يوجد منها أيضا ما يمكنه المعيشة خارج الخلايا .

جنس - *Symbiojes* :

خلايا مختلفة الشكل المورفولوجي . تعيش معيشة تبادل منفعة في أجسام الحشرات العائلة لها . وتحمل هذه الكائنات في تركيبات خاصة بجسم الحشرات استمالة لها أو فيا يسمى الـ *mycetomes* .

جنس - *Rickettsiella* :

يتلازم وجودها داخل خلايا الحشرات مع وجود محتويات بلورية ، معينة . أحيانا تتواجد داخل الأنوية بخلايا العائل . يسبب النوع الوحيد بالجنس *R. popillae* المرض الأزرق ليرقات الخنافس .

الجزء التاسع عشر

الميكوبلازومات

Mycoplasmas

Class Mallicutes

وهي تشمل الصف الثالث من البروكاريوتات غير المكترثة بالضرورة وتعرف أيضا بالبكتيريا العارية من الجدار .

أفراد هذه الرتبة ذات أشكال مورفولوجية غير ثابتة highly pleomorphic

تتميز بطرق تكاثر شاذة : حيث تنكسر وحداتها العصبوية أو الخيطية ( ذات ميل إلى التفرع ) إلى وحدات كروية صغيرة ودقيقة جداً يمكنها المرور خلال المرشحات البكتيرية ( المرشحات التي تمنع مرور خلايا البكتيريا الحقيقية ). وعادة تكون أجسام هذه الخلايا مرنة وسهلة الكسر fragile بدرجة أنها تتأثر كثيراً عند تجهيز تحضيرات منها مثبتة ومصبوغة لأغراض الفحص الجهرى . لا تكون جراثيم داخلية . سائلة لصبغة جرام . تنمو بسهولة على البيئات الروتينية إلا أن بعض الأنواع تكون ذات مطالب غذائية خاصة . بعضها يحدث أمراضاً والبعض الآخر يعيش معيشة ترممية . تحاط بغشاء خلوى مكون من ٣ طبقات وتفتقر إلى الجدار الخلوى معظم الأنواع مقاومة للبسيلين .

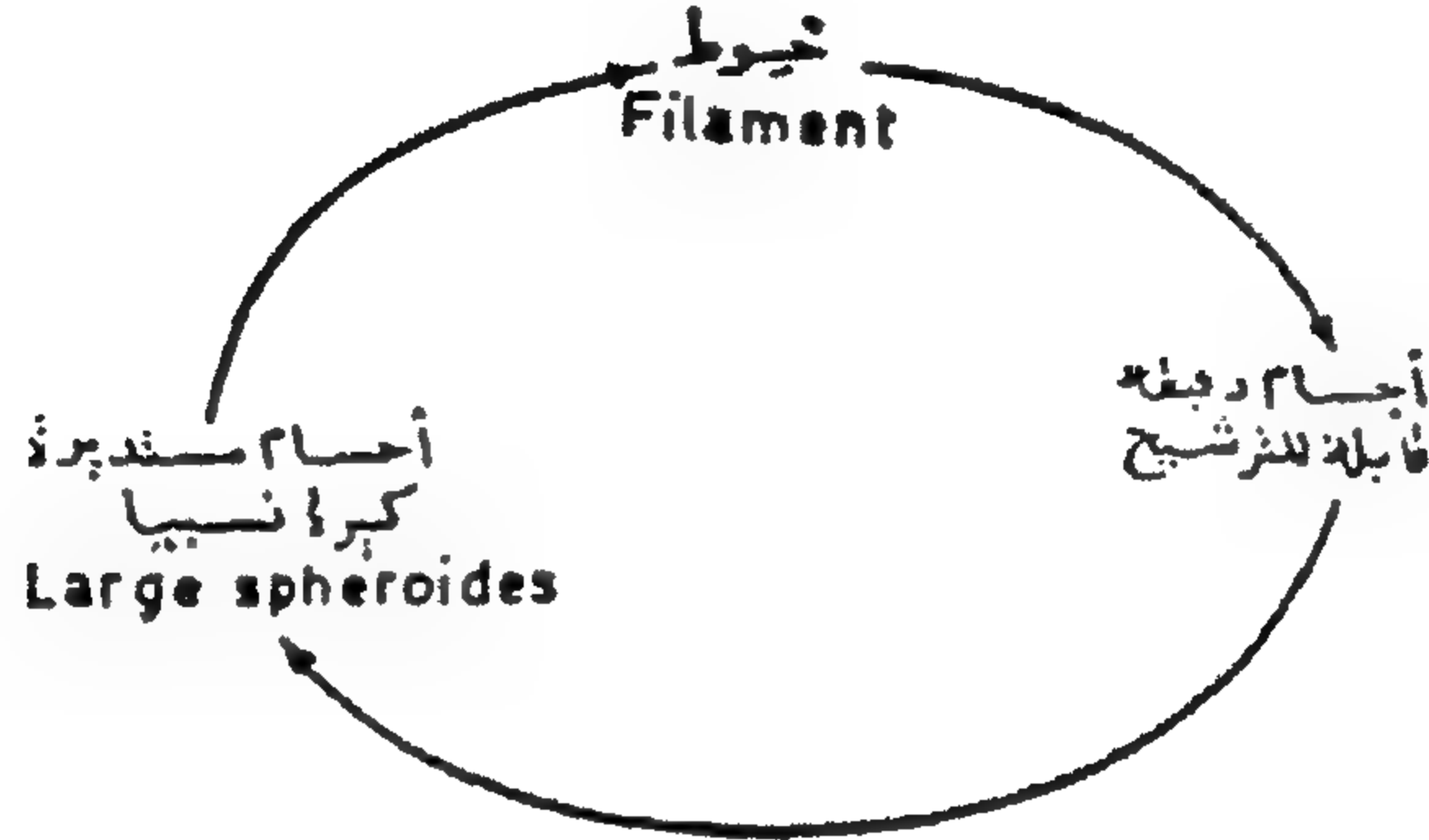
وقد أطلقت أسماء متعددة على أفراد هذه الرتبة وأكثرها شيوعاً هو . مجموعة البليرونيمونيات Pleuropneumonia group . وتاريخ اكتشاف هذه المجموعة يرجع إلى وقت التعرف على سبب مرض البليرونيمونيا فى الماشية ( ١٨٩٨ ) وكان يظن حينئذ أنه فيروس . ولكن عند محاولة تنمية المسبب على البيئات الغذائية أمكن التأكد من أنه ليس من الفيروسات بل يتبع مجموعة من الكائنات لم يتبين أهميتها إلا منذ عهد قريب .

وفى كثير من الحالات يطلق على الكائنات التابعة لهذه الرتبة والتي تكتشف حديثاً اسم الكائنات الشبيهة بمسبب مرض البليرونيمونيا .

(PPLG) Pleuropneumonia - like - organisms

هذا وبعض صور هذه الكائنات يمكنها أن تمر خلال المرشحات البكتيرية حيث يتراوح قطر أصغرها حجماً بين ١٥٢ - ٢٥٠ ميللى ميكرون ومثل هذه الوحدات الدقيقة القابلة للترشيح يمكنها أن تنمو على البيئات الغذائية أو على الأنسجة الحية مكونة مستعمرات دقيقة الحجم . من ذلك نرى أنه لا يلزم استعمال مزارع الأنسجة tissue culture لزراعها كما هو الحال فى الفيروسات القابلة للترشيح . وعندما تصيب هذه الكائنات الخلايا الحية فإنها لا تكون بها

أجساما غريبة inclusion bodies كما يحدث في حالة الاصابات الفيروسية ويعتقد البعض في أنه قد يكون لميل هذه الكائنات دورة حياة منظمة حيث يمر الكائن خلال عدة أطوار مورفولوجية كما يلي :



وقد اقترح طريقتين لتكاثر هذه البكتيريات :

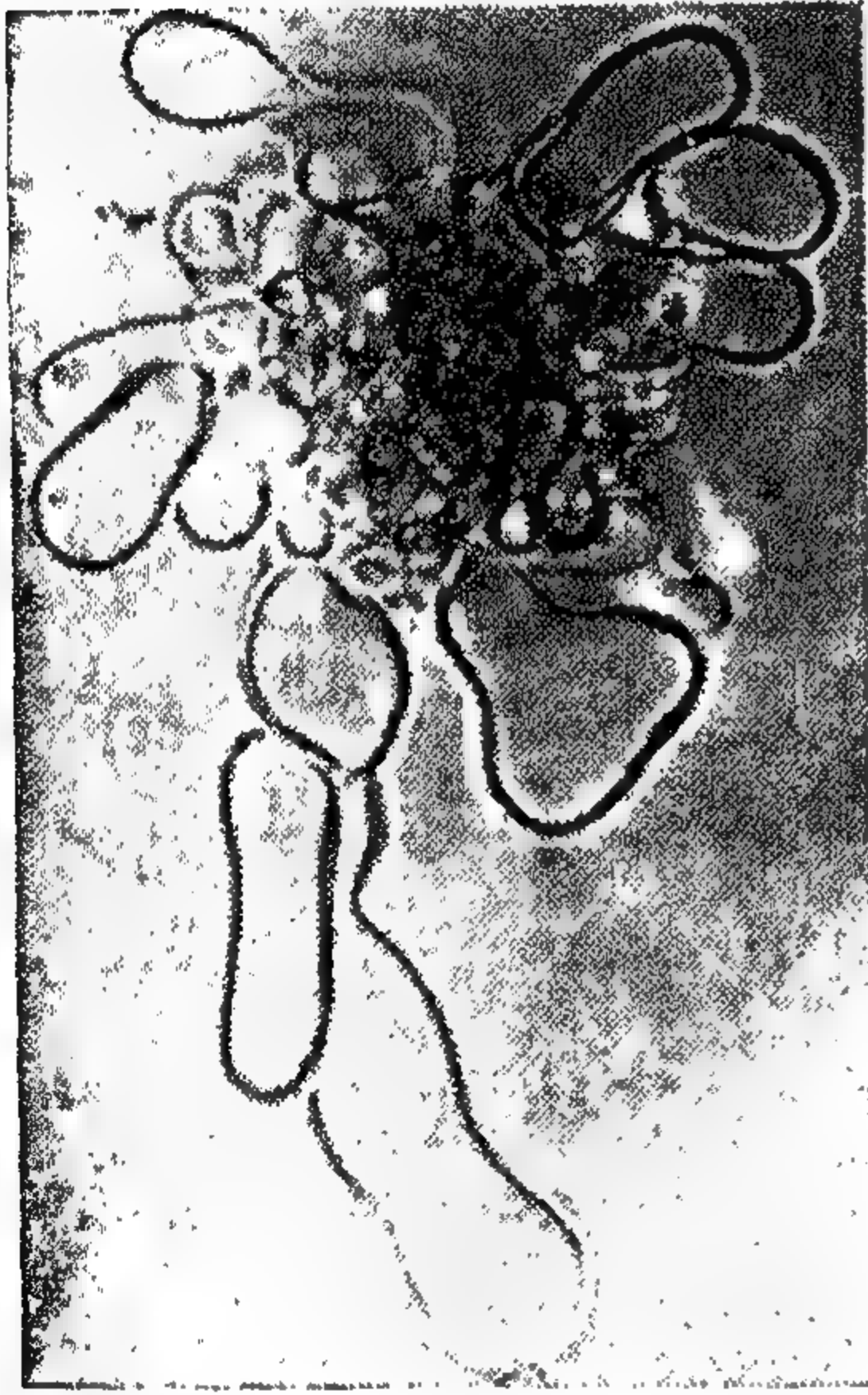
١ - التجزؤ segmentation ٢ - عن طريق تكوين الوحدات المبدئية elementary units تكون محاطة بغشاء .

هذا ويجب أن نقرر هنا أنه يصعب تفسير الفائدة التي تعود على هذه الكائنات من الدقة الملحوظة في حجمها . ويبدو أن أفراد هذه الرتبة تمثل مجموعة من الكائنات تقع بين البكتيريات والريكتيزيات من ناحية وبين الفيروسات من الناحية الأخرى .

#### L - form bacteria

لقد تمكنت Klienberger (١٩٣٥) من أن تعزل أشكال بروتوبلازمية صغيرة قرخوة نتجت عن الخلايا العصوية للبكتيريا *Streptobacillus moniliformis* المسببة لحمى عضه الفئران للإنسان ، كما تمكنت من الاحتفاظ بهذه الأجسام البروتوبلازمية المرنة وتنميتها في مزارع نقية ثم أطلقت عليها اسم L - forms تتميزها عن الأشكال العصوية المعتادة وحرف (L) المستعمل في التسمية اشتق من الحرف الأول في اسم المعهد التي كانت تعمل به العاملة المذكورة وهو

معهد ليستر Lister institute ومنذ ذلك الوقت تمكن آخرون من مشاهدة هذه الظاهرة وأشاروا إليها بنفس الاسم L. - forms أو Lister - forms أو L - phases. وهذه التسمية كانت تستعمل لوصف وحدات فردية . وعادة يطلق هذا الاسم على الأجسام المرنة والتي لم تعد تشبه الخلايا البكتيرية الصلبة والتي لا يمكنها الرجوع إلى حالتها الطبيعية والتي تعطى عند تنميتها نوعاً مميزاً من المستعمرات على سطح البيئات الصلبة مستقلة تماماً عن النوع البكتيري ، الذي نشأت عنه .



شكل ١٧٨ : مستعمرات L - forms للبكتيريا *Streptobacillus moniliformis* نامية في نقطة معلقة . لاحظ القطرات التي تحتوي على كولستروول .

وعند زراعة L - forms على سطح بيئة صلبة مناسبة فانها تكون مستعمرات مستديرة تتميز بمركز غامق اللون وحواف تشبه الشريط ذات لون فاتح (شكل ١٧٩) وعندما تنمو المستعمرات متكافئة فانه لا يتميز منها إلا مراكزها أما الحواف فتلتحم ببعضها ولا يمكن تمييزها. والشكل الشريطي lace like المميز للحواف يرجع إلى إفراز بعض المواد الايضية التي تتركز بالحواف بشكل نقط زيتية. وفي حالة البكتيريا

*Streptobacillus moniliformis*

وجد أن هذه القطرات تحتوي على مادة الكولستروول (شكل ١٧٨).

ويرجع كثافة المركز إلى تعمق نمو الخلايا في بيئة الآجار في هذه المنطقة .

وقد وجد أن مستعمرات L - forms لكل من : *Streptobacillus moniliformis*

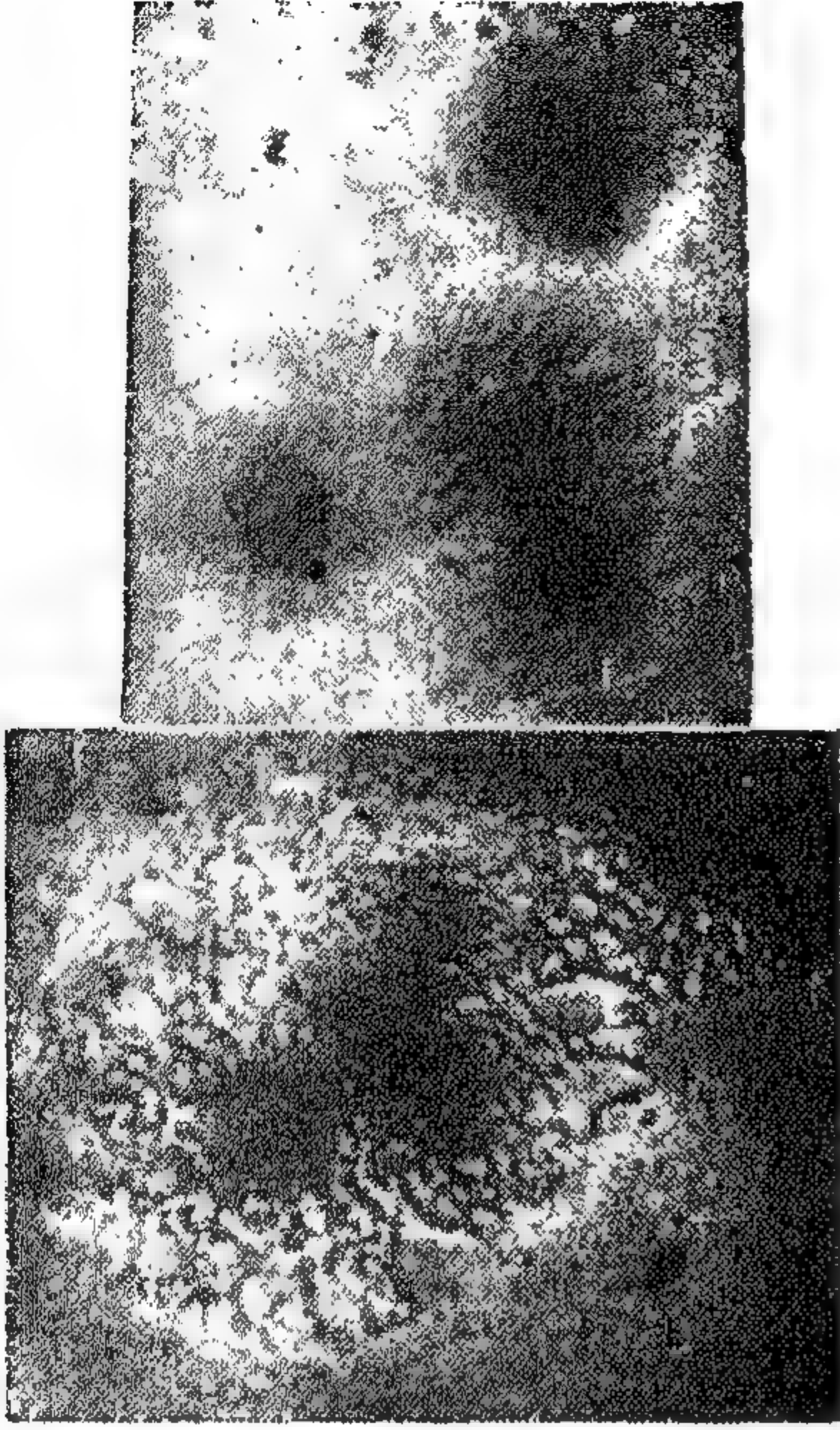
*Bacterium microphorus* و *Salmonella* sp. و *Proteus vulgaris* و *Streptococcus* لا يمكن تمييزها عن بعضها من الناحية المورفولوجية بمعنى أنها متشابهة تماماً.



ولكن يمكن التمييز بينها بالطرق البيوكيميائية أو السرولوجية .  
وفي البيئات السائلة تكون نمو L-forms ذو مظهر حبيبي granular  
ويلتصق بجدار الأنبوب أو الدوارق المحتوية عليها أو يترسب في قاعها ويختلف  
حجم الحبيبة الواحدة حيث يتراوح بين تجمعات صغيرة إلى أحجام تصل إلى  
حجم رأس الدبوس . ويشذ عن ذلك L-forms الخاصة بالبكتيريا *Proteus*  
*vulgaris* والتي تكون غشاء فوق سطح البيئات السائلة . وجميع L-forms تنمو  
جيدا على البيئات شبه الصلبة . كما يمكن تنمية مزارع L-forms  
غير الهوائية إجبارا أو اختيارا في بيئة بريوار *Brewer* المقواه بإضافة سIRM  
الدم .

#### التشابه بين L-forms والبكتيريات التابعة لمجموعة البايرونيومونيا

عندما شوهدت مستعمرات L-forms لأول مرة كان يظن أنها بكتيريات  
تابعة لمجموعة البايرونيومونيا لكثرة التشابه بين مستعمراتها . ففي كل من الحالتين  
فان مركز المستعمرة يكون مدفونا في الآجار كما أن مستعمرات كل منهما  
يتميز بالمظهر الشريطي عند حوافها إلا أن مظهر مستعمرات L-forms  
يكون ذا مظهر حبيبي بدرجة أكبر (شكل ١٧٩) . وفي كلا المجموعتين فان  
الخلايا الفردية تظهر اختلافات مورفولوجية واضحة كما أنها تفتقر إلى الجدار  
الخلاوي الصلب . . وأفراد كلا المجموعتين من الكائنات ذات  
مطالب غذائية معينة وأن معظمها يحتاج إلى إضافة سIRM الدم إلى البيئة . كما  
أنها مقاومة للتركيزات المرتفعة من البنسلين ومركبات السلفوناميد . ونظرا  
لغياب الجدار الخلوي الصلب فانها تتأثر كثيرا في المحاليل ذات الضغط  
الأسموزية المنخفضة مثل الماء أو محلول الملح الفسيولوجي saline . كل  
منها يمكنه أن يكون وحدات قابلة للمرور خلال المرشحات التي تحجز خلايا  
البكتيريا الحقيقية . كل هذا قد جعل الكثيرين يميلون إلى الاعتقاد بأن  
مجموعة البايرونيومونيا ما هي إلا L-forms غير معروفة الأصل .



شكل ١٧٩ : الصورة العليا لمستعمرات L-forms  
والسفل لمستعمرات مجموعة البليرونيمونيا .

وبالرغم من هذا فإنه يوجد بعض الاختلافات بين المجموعتين من الكائنات الأمر الذي يدعو إلى الاعتقاد أن L - forms تنتمي إلى مجموعة خاصة بها . ومن هذه الاختلافات ، أن بعض مزارع L - forms يمكنها أن تنمو على بيئات بسيطة في حين أن الأنواع الممرضة من PPLO لا يمكنها ذلك بل تتطلب إضافة مواد معقدة إلى بيئاتها مثل سیرم الدم والفيتامينات أو مستخلص الخميرة أو مستخلصات المزارع البكتيرية فقد وجد أن PPLO تحتاج أيضاً إلى إضافة كوليسترول في بيئتها في حين أن L-forms لا تحتاجها .

نادراً ما تشاهد L - forms في أجسام المرضى أو في الطبيعة في حين أن PPLO منتشرة انتشاراً واسعاً في الطبيعة وأمكن عزلها من التربة ومن مياه المجارى ، ومن أنسجة الحيوانات والانسان .

وقد يتساءل البعض عن الفرق بين L-forms وبين البروتوبلاستات العارية الممكن الحصول عليها بعد معاملة الخلايا بانزيم اللايزوزيم على البكتيريات الموجبة لصبغة جرام كما سبق أن بينا .

والفرق الحقيقي أن البروتوبلاستات العارية التي أمكن تجهيزها باستعمال البنسلين يمكنها أن ترتد إلى الصورة الطبيعية أو الأصلية من الخلايا بينما L - forms

تكون أطوارا انتقالية قد تحتوى على كمية معقولة من مادة الجدر الخلوية وهذه يمكنها أن تتكاثر ولكن لا يمكنها أن ترتد إلى الشكل العصوى الأصيل .

وفيا يلي بعض المعلومات الإضافية عن L-forms :

١ — الخلايا التي تكون L-forms لا تتطابق سيروlogيا مع L-forms الناشئة عنها حيث أن الأخيرة لا تحتوى على الانتيجينات السوطية H-antigens المميزة للخلايا الأصلية ولكنها تمتلك فقط الانتيجينات الجسمية O-antigens .

٢ — L-forms الناتجة عن خلايا بكتيرية ممرضة ، لا تسبب أمراضا فثلا التي تنتج عن *Salmonella typhimurium* أو *Streptobacillus moniliformis* تكون غير ممرضة . ولكن في بعض الحالات وبخاصة L-forms الناتجة عن أنواع *Vibrio* قد يكون لها بعض القدرة الممرضة .

٣ — أن التحولات الايضية لخلايا L-forms تكون متطابقة مع تلك الخاصة بالخلايا الأصلية . ولكنها قد تختلف في بعض الصفات مثل المقاومة للبنسلين أو مركبات السلفوناميد .

٤ — التركيب الكيماوى لخلايا L-forms لا يختلف كثيرا عن التركيب الكيماوى للخلايا الأصلية التي نشأت منها فيما عدا مكونات الجدر الخلوية التي تفتقر إليها خلايا L-forms .

٥ — يمكن إنتاج L-forms نتيجة لتعرض الخلايا الأصلية لتدرجيا إلى عوامل منبهة stimulating substances . قبل تكون الأطوار الانتقالية ، وغير الثابتة والتي تتحول إلى L-forms . ومن هذه العوامل المنبهة مادة البنسلين أو بعض الأحماض الأمينية أو السرم المضاد أو بعض الأملاح . وبمجرد تكون L-forms يمكنها أن تتكاثر ولا يمكنها الارتداد إلى أصلها تحت أى ظرف من الظروف .

## المراجع

- "Bergeys Manual of Determinative Bacteriology". 7th ed. The Williams and Wilkins Co. Baltimore, Md. U.S.A. 1957.
- Besset, K.A. 1952. Bacteria, E. and S. Livingstone Ltd. Edinburgh.
- Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons. 1974.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th Edition. The Williams and Wilkins Company. Baltimore .
- Klieneberger—Nobel, 1960. "L-forms of bacteria" in J.C. Gunsalus and R.Y. Stanier (eds.) of "The Bacteria" vol. 1, Academic Press. New York and London.
- Leifson, E. 1960 Atlas of bacterial flagellation. Academic Press, New York and London, p. 171 P.





## الفصل الثالث

### الفـيروسـات

تشمل هذه المجموعة عدد كبير من الكائنات المتباينة الأشكال والمتشابهة في كونها طفيليات اجبارية تعيش داخل خلايا العائل الخاص بها ولازال وضعها التقسيمي غير متفق عليه إلى الآن. وهذه الكائنات دقيقة الحجم جدا بدرجة تسمح بمرورها خلال المرشحات التي تمنع مرور الخلايا البكتيرية والريكتيزيات. ولكي نتصور صغر حجم الجزيئات الفيروسية فان جدار خلية واحدة من أحد أنواع البكتيريا *Staphylococcus* تقسع لعدة آلاف من جزيئات الفيروسات الصغيرة. وأن حجم جزيء الفيروس الكبير لايزيد عن  $\frac{1}{10}$  حجم خلية واحدة من هذه البكتيريا. وتنمو الفيروسات في أنسجة النباتات والحيوانات والحشرات وبداخل خلايا البكتيريا، والكثير منها قد لا تضر العائل النامية بخلاياه. وفي بعض الأحيان يمكنها أن تتميز ببعض الأعراض مثل الفيروسات التي تعيش في خلايا أبصال الزينة (tulip) حيث تسبب في إنتاج أزهار ذات تخطيطات جميلة بدلا من تمييزها بلون واحد. وفي هذه الحالة فان إصابة النباتات بالفيروس تزيد من القيمة الاقتصادية لهذه الأزهار. ولذلك يقبل الزراع على عدوى نباتات الثيوليب بهذا الفيروس للحصول على أزهار ذات أثمان مرتفعة.

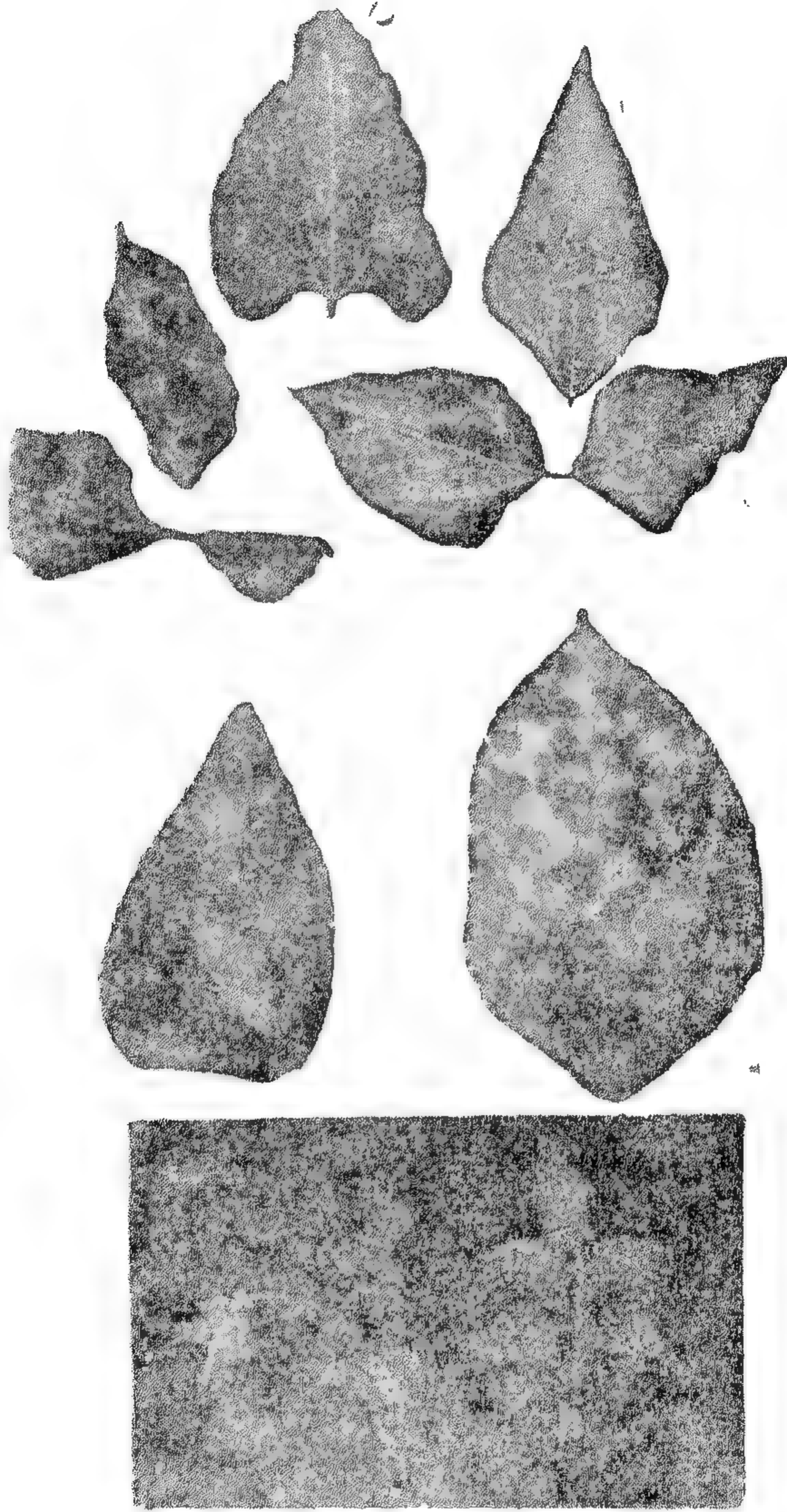
وعند تواجد الفيروسات بجسم العائل تسخر خلايا العائل لصالحها فهي تجبرها على تخليق بروتينات وأحماض نووية فيروسية بدلا من تخليقها للبروتينات والأحماض النووية اللازمة لتكوين خلايا العائل نفسه.

وإذا رجعنا إلى تاريخ الدراسات الفيروسية نجد أن باستير عندما قام بدراسة مرض الكلب rabies، بالرغم من عدم قدرته على رؤية المسبب. وأمكنه تحصين الانسان أو الحيوان من الإصابة به. لم يكن أول من فتح الباب نحو دراسة الأمراض الفيروسية. وفي الحقيقة فان الأمراض المتسببة عن

الاصابات الفيروسية كان من الممكن التعرف عليها اكلينيكيًا منذ عهد طويل قبل باستير . فأول مرض ميكروبي معد أمكن التوصل إلى طرق للوقاية منه كان مرضًا فيروسيًا ، فقد قام Jenner (١٧٩٦) بدراسة مرض الجدري small pox ، وأمكنه تحصين طفل عمره ٨ سنوات بلقاح أخذ من بثرة جدري متكونة على جسم شخص آخر مصاب . وقبل القيام بنشر أبحاثه كان قد تمكن من تحصين ٢٣ شخصًا بنفس الطريقة فلم يصب منهم شخص واحد عند التعرض للاصابة . وحاليا يحضر المصل الواقي من مرض الجدري بتنمية الفيروس في جنين بيض الدجاج أو على جلد العجول الصغيرة لمنع فرصة انتقال أمراض أخرى إلى الإنسان المحصن .

وقد قام Iwanowski (١٨٩٢) بإعطاء الدليل الإيجابي على وجود ، الفيروسات القابلة للترشيح عند دراسته لمرض موازيك الدخان ( TMV ) Tobacco mosaic virus . فقد وجد أن عصارة النباتات المصابة عقب تمريرها في أحد المرشحات البكتيرية (Berkefeld filter) لازال في إمكانها عدوى نباتات سليمة. وقد قام Beijerinck (١٨٩٨) . بتأييد نتائج Iwanowski والذي اقترح أن العدوى تحدث نتيجة للسائل المعدى contagium vivum fluidum ، وإذا كان ذلك يعنى أن هناك شيئًا معديًا في السائل الناتج عن الترشيح فإن Beijerinck كان قريبًا جدًا من الحقيقة .

وبعد عدة أشهر تمكن Frosh and Löffler (١٨٩٨) من إظهار أن مسبب مرض الفم والقدم في الماشية foot and mouth disease يمكنه أيضاً أن يمر خلال مرشح بير كفيلد Berkfeld . ومنذ ذلك الوقت أمكن التعرف على العديد من الأمراض تسبب عن الفيروسات القابلة للترشيح . والتي منها ، الجدري small pox ، والحصبة measles ، والغدد النكفية mumps ، والانفلونزا ، والالتهاب الرئوى الكاذب atypical pneumonia والحمى الصفراء ، وشلل الأطفال ، ومرض الفم والقدم (الحمى القلاعية) ، وأمراض



شكل ١٨٠ : لوحة تبين بعض أعراض إصابة النباتات بالفيرومات ( أ ) أوراق نبات فاصوليا مصابة بفيرس موازيك الفاصوليا (BMV) ( ب ) وريقات نبات لوبيا مصاب بفيرس التبرقش الأصفر للوبيا (CCMV) cowpea chlorotic mottle virus (ج) وريقات من قمة نبات طماطم تبين الدرجات المختلفة من الإصابة بفيرس التقزم القمي لنباتات الطماطم Bushy stunt virus.

نخشرات والطيور . وأمراض النباتات مثل الموزاييك ، والاصفرار ،  
والذبول ، والتخطيطات ، والتبقعات ، (شكل ١٨٠) . ومن الفيروسات ،  
مايسبب أمراضا لخلايا البكتيريا ، وتعرف مجموعة الفيروسات التي تصيب  
البكتيريا باسم بكتيريوفاج bacteriophage .

وعلى هذا الأساس قسم علماء التقسيم الفيروسات إلى الفيروسات التي تصيب  
البكتيريا وتلك التي تصيب النباتات الراقية وتشملها الفيروسات التي تصيب  
الحيوانات (الثدييات ، والحشرات ، والطيور والأسماك) .

وعلاوة على ذلك تقسم الفيروسات إلى أجناس وأنواع والأخيرة قد  
تقسم إلى طرز سيريولوجية مختلفة . وقد اقترح أخيرا تقسيم الفيروسات تبعاً  
لنوع الأحماض النووية والدهون التي تحتويها . كما أنه يمكن أيضاً عن هذا  
الطريق التعرف على السلالات التي يحتويها كل طراز .

والسلالات هي عبارة عن مزارع يمكن الحصول عليها من عزلات فردية  
وتسمى عادة تبعاً للشخص الذي قام بعزلها لأول مرة أو تبعاً للمكان أو المنطقة  
التي عزلت منها لأول مرة . والطراز الواحد يحتوي على عدة سلالات .

### خصائص الفيروسات

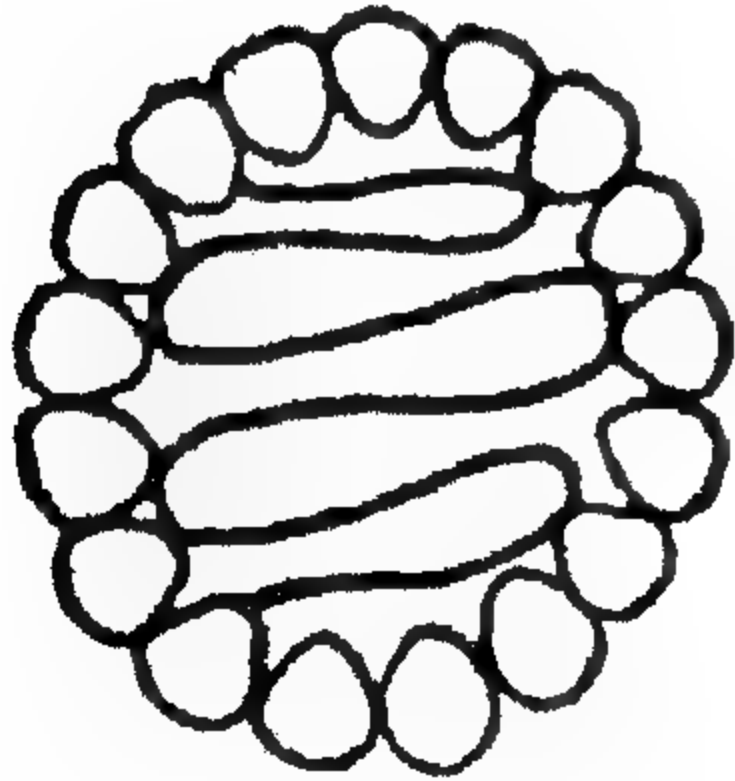
قبل التمكن من دراسة الشكل الظاهري للفيروسات باستعمال المجهر  
الألكتروني : كانت الاصابات الفيروسية في خلايا الحيوانات والنباتات تعرف  
على أساس وجود أجسام غريبة داخل الخلايا السليمة تعرف باسم inclusion  
bodies والتي تصاحب عادة الاصابات الفيروسية . فقد لاحظ Buist  
(١٨٨٧) حبيبات دقيقة في سيتوبلازم الخلايا المحيطة بتقرحات الجدري كما  
لاحظ Paschen (١٩٠٦) مثل هذه الحبيبات والتي سميت باسمه Paschen bodies  
وهي تعتبر تجمعات أو مستعمرات لجزيئات الفيروس داخل خلايا  
العائل . هذا وتتواجد أجسام غريبة في سيتوبلازم خلايا الأعصاب وفي خلايا



النخاع الشوكي في حالات الإصابة بمرض الكلب rabies وتعرف هذه المحتويات باسم Negri bodies تبعاً لمكتشفها وهي تميز الإصابة بهذا المرض. ومثل هذه الأجسام الغريبة في خلايا العائل قد لوحظت مصاحبة للإصابة بكثير من الأمراض الفيروسية والتي قد توجد في السيتوبلازم intracytoplasmic أو في النواة intranuclear. كما سبق أن بينا فإن وجود هذه المحتويات الغريبة تستعمل في الأغراض التشخيصية للأمراض الفيروسية ولكن لا يعرف إلى الآن أهميتها للفيروس أو طبيعة تكوينها. هذا وتكون أيضاً بالخلايا النباتية المصابة بالفيروسات أجسام غريبة تعرف أيضاً باسم inclusion bodies.

#### تركيب الفيروسات Composition of viruses

تركيب الفيروسات من جزيئات من الأحماض النووية والبروتينات ذات قدرة على التواجد بمفردها أو بشكل بلورات تركيب من عدة ملايين وفي بعض الأحيان عدة بلايين من الجزيئات. وجزء أو وحدة الفيروس المعدية تعرف باسم « virion » وقبل مناقشة التركيب التفصيلي لكل وحدة يجب أن نذكر هنا أن كل وحدات الفيروس الواحد تكون متطابقة ومتشابهة تماماً في تركيبها وكما هو موضح (بشكل ١٨٠) فإن وحدة الفيروس المعدية تتكون من



شريط ملتف من الأحماض النووية (التركيب الوراثي). يوجد بداخل غلاف من البروتين يعرف باسم capsid والذي يتركب من وحدات subunits تعرف باسم capsomeres ترتب بنظام خاص.

شكل ١٨٠ : قطاع في وحدة فيروسية معدية virion تتركب من شريط ملتف من الأحماض النووية محاط بغلاف بروتيني (capsid) مكون من وحدات يعرف كل منها Capsomeres

وأبسط جزيئات الفيروس تركيباً هي عبارة عن جزيئات من الأحماض النووية محاطة بغلاف بروتيني وافي. والجزيئات الأعقد تركيباً تحتوى على بروتينات نووية



nucleoproteins وبعض المواد الأخرى مثل الدهون ، والكربوهيدرات وفي بعض الحالات يوجد بها آثار من المعادن وبعض المواد الشبيهة بالفيتامينات .

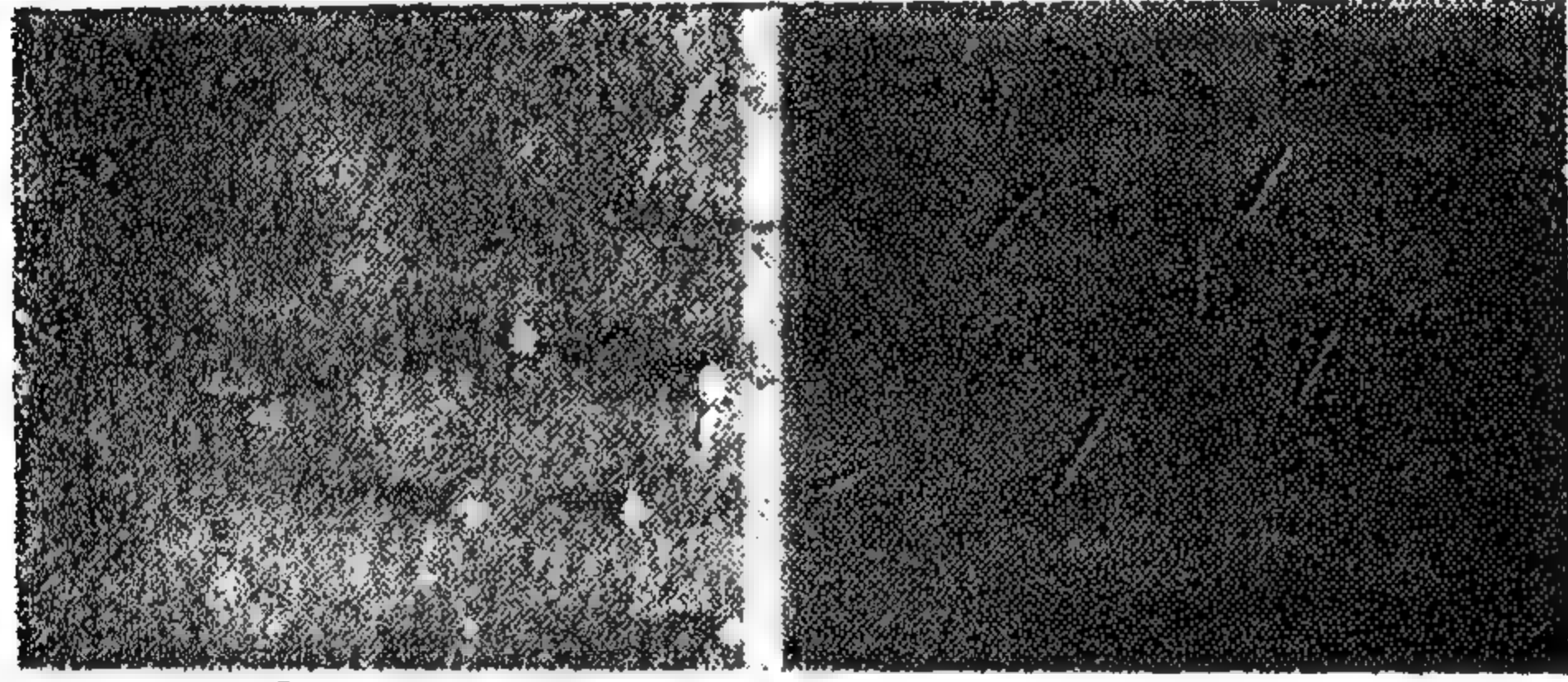
والفيروسات البكتيرية تحتوي على نوع معين من البروتينات في تركيب ليقي خاص يعرف باسم الذيل والذي يمكن عن طريقة الاتصال بخلايا العائل .

وتحتوي جزيئات الفيروس إما على DNA أو RNA ولكن لا يوجد النوعان من الأحماض النووية في جزيء الفيروس الواحد . وهذا يختلف عما هو معروف عن وجود مثل هذه المكونات في الخلايا الحية الأخرى والتي تحتوي بدون استثناء على كلا النوعين من الأحماض النووية . ومن المعروف أن DNA هو المادة الحاملة للصفات الوراثية genetic information في كل الكائنات الحية . إذن في حالة الفيروسات تحمل الصفات الوراثية على DNA . في بعض الفيروسات وعلى RNA في الفيروسات الأخرى الحالية من DNA وتختلف ، الفيروسات في محتوياتها من DNA أو RNA ، وعادة يوجد في الفيروسات النباتية . في حين أن الفيروسات الحيوانية قد تحتوي على DNA أو RNA . ومن ذلك يمكن تقسيم الفيروسات الحيوانية إلى مجموعتين على حسب محتوياتها من الأحماض النووية وفيما يختص بالفيروس البكتيري فهو يحتوي باستمرار على DNA .

وقبل اكتشاف المجهر الإلكتروني كان من الصعب رؤية الفيروسات ، وباكتشاف هذا النوع من الميكروسكوبات فقد أمكن عمليا رؤية الأشياء ذات القطر الذي يصل من الدقة إلى ١٠ ميللي ميكرون (نظريا ٠,٥ ميللي ميكرون) وقد أمكن تكبير هذه الأشياء إلى ما يقرب من ١٠٠,٠٠٠ مرة باستعمال المجهر الإلكتروني كما يمكن أخذ صور لها وتكبيرها بدرجات أكبر عند الطبع لتصل درجة التكبير إلى مليون مرة .

وعند الفحص بالمجهر الإلكتروني فان عينات الفيروس أو المواد الحية الأخرى يجب أن تحضر على غشاء رقيق جدا من مادة الكلوذيون collodion

membrane وتترك لتجف ، ثم توضع العينة تحت ناقوس زجاجي مفرغ من الهواء للتأكد من التجفيف التام ، ثم يجرى على العينة عملية يطلق عليها اسم التظليل shadowing بتجزئة بعض المعادن ، كالذهب الغروي أو البلاتين أو بعض المعادن الأخرى كالتنجستين أو الكروميوم والتي ترسب جزيئاتها على العينة لتجعل جزيئات الفيروس (أو خلايا البكتيريا) تبدو ذات ثلاثة اتجاهات three dimensions .  
والصور الالكتروميكروسكوبية التي أخذت لجزيئات الفيروسات تساعد في معرفة شكلها وحجمها (شكل ١٨٢) كما تساعد أيضاً على معرفة بعض التركيبات الداخلية لهذه الجزيئات .



(ب)

(١)

شكل ١٨٢: صور الكروميوسكوبية لجزيئات الفيروسات النباتية (١) جزيئات فيروس موازيك الدخان (ب) جزيئات الفيروس المسبب لمرض التقزم القمي لنباتات الطماطم Tomato bushy stunt.

والفيروسات تظهر اختلافات كثيرة في أحجامها فأصغر الفيروسات ، تكون جزيئاتها ذات قطر ١٠ ميللي ميكرون في حين أن جزيئات أكبرها ، حجماً تصل إلى ١٠٠ ميللي ميكرون . بعضها يظهر بشكل أبري أو عصوي أو دائري أو مكعبة بشكل بلورات عديدة السطوح (rhomboidal) أو تكون ذات ذيل يشبه إلى حد ما أبو ذنبية tadpoles ، والحالة الأخيرة تميز جزيئات الفيروس البكتيري (شكل ١٨٤) .

وبتقدم الطرق الالكتروميكروسكوبية والتحليلية فقد تبين أن جزيئات بعض الفيروسات تتكون من ما يقرب من ١٦٢ خيط بروتيني، تترتب بحيث يظهر الجزيء بشكل عديد الأوجه rhomboiod في حين أن جزء واحدا من الفيروسات الأخرى يتكون من ٢٥٢ جسم كروي صغير تنتظم مع بعضها لتعطى شكلا متعدد الأوجه (ذو ٢٠ سطح). ويعتبر فيروس موزاييك الدخان أكثر الفيروسات دراسة من ناحية التركيب الجزيئي لوحده فقد وجد أن جزيء هذا الفيروس عبارة عن خلية حلزونية من البروتين تحيط بشريط حلزوني من RNA. ومحتويات الجزيء من RNA تضافى عليه القدرة على إحداث المرض ولكن محتوياته من البروتين يبدو أنها تكون مسئولة عن التخصص العائلي (host specificity)، فبمجرد إزالة الغلاف البروتيني من الجزيء فإن RNA العارى يمكنه أن يسبب العدوى فى أى نبات، كان من المعروف أنه لا يصاب بمرض الموزاييك، ومن الغريب أن جزيئات الفيروس الحالية من البروتين هذه عندما تتكاثر داخل خلايا عوائل جديدة تكون وحدات كاملة مغلفة بالبروتين.

ويمكن قياس أبعاد الجزيئات الفيروسية عن طريق المجهر الالكتروني، وكذلك عن طريق التحليلات التى تجرى بالقوة المركزية العالية السرعة analytical ultracentrifuge. وباستعمال الطريقة الأخيرة فإن معامل الترسيب sediment rate لأى مادة يكون ثابتاً عندما تجرى التصحيحات الخاصة بتذبذبات هذا المعامل نتيجة للاختلافات التى قد تحدث فى درجة الحرارة وبعض العوامل الأخرى التى تسود فى البيئة المحتوية على الجزيئات الفيروسية أثناء ترسيبه. وبذلك يكون معامل الترسيب متلازما مع حجم جزيئات الفيروس.

### تكاثر الفيروسات

من المعروف أن الفيروسات غير قادرة على التكاثر وهى معزولة بعيدا عن خلايا العائل. فلكى تتكاثر يجب أن توجد بخلايا العائل التى تسخرها

لحسابها بمعنى أن وجود جزيئات الفيروس بخلايا العائل تجبر هذه الخلايا على تجهيز البروتين والأحماض النووية الفيروسية اللازمة لتكاثرها كما سبق أن ذكرنا . ولا زالت الطريقة التي يتم بها ذلك غير معروفة إلا أنه قد اقترح عدة احتمالات منها مايلي :

(١) أن وجود الفيروس بالخلايا يجعلها تزيد من إفراز بعض الانزيمات المعينة .

(٢) للفيروس دورة حياة يجب أن يمضيها داخل خلايا العائل

(٣) وجود الفيروس بخلايا العائل يتسبب عنه تكوين مواد أولية precursors لجزيئات الفيروس وهذه تتكون عن طريق عملية تحول transformation تنشط فقط في وجود جزيئات الفيروس .

(٤) تكوين نظم انزيمية معينة نفرزها جزيئات الفيروس المهاجم ، ونتيجة لذلك تتكون جزيئات فيروسية أخرى من مكونات خلايا العائل .

ومن الملاحظ أن كل هذه النظريات المقترحة تتجاهل إمكان تكاثر جزيئات الفيروس عن طريق الانفلاق أو التبرعم أو بأي طريقة أخرى من طرق تكاثر غيره من الخلايا الحية . وبالرغم من احتمال عدم صحة أي من النظريات السابق ذكرها إلا أنها قد شجعت على البحث والدراسة للتعرف على طريقة تكاثر الفيروسات . وقد ثبت حالياً أن جزيئات بعض الفيروسات الدائرية أو العصوية قد تتكاثر عن طريق انقسام الجزيئات شأنها شأن الخلايا الحية الأكثر رقياً . ففي حالة الفيروس المسبب لمرض الانفلونزا أو المسبب لمرض نيوكاسل New Castle disease في الدواجن ذات الجزيئات الخيطية الشكل أمكن مشاهدة أجساما كروية spheriodes تنفصل عن هذه الوحدات الخيطية قد تكون نتيجة للانقسام .



## طرق زرع الفيروسات

ان الحقيقة المعروفة عن الفيروسات بأنها لا تتكاثر إلا داخل الخلايا الحية للعائل ، تبين أن زراعة هذه الكائنات تختلف كلية عن طرق زرع البكتيريا فبدلاً من تنمية الكائن الفيروسي يلزم إذن تنمية العائل المصاب نفسه ، وفي حالة النباتات فان ذلك ليس من الأمور الصعبة ، حيث أن الأمراض الفيروسية نادراً ما تقتل النبات ولكن تضعفه فقط ، أما في حالة الفيروسات الحيوانية يشترط إجراء طرق أخرى ، نلخصها فيما يلي :

### ١ - طريقة التنمية في اجنة الدجاج Cultivation in chick embryos

تعتبر أول طريقة استعملت لتنمية الفيروسات في مزارع نقية بالمعمل . وفي هذه الطريقة يلقح بيض دجاج مخصب ، ومحضن لمدة ٥ - ١٢ يوماً ، وذلك بإزالة قطعة صغيرة من قشرة البيضة بعد تعقيمها خارجياً ثم توضع قطعة الأنسجة المحتوية على جزيئات الفيروس خلال فتحة تجرى داخل أغلفة الجنين . تقفل البيضة مرة ثانية باستعمال شمع اليرافين . بعض الفيروسات يمكنها أن تنمو وتتكاثر داخل أغلفة البيضة وبخاصة الغشاء المعروف باسم Chorioallantois membrane ويمكن أيضاً تلقيح أغلفة الصفار yold sacs لتنمية الفيروسات أو الريكيتريات .

وتستخدم هذه الطريقة لإنتاج الفيروسات التي تستعمل في إنتاج الفاكسينات وبخاصة فاكسين الجدري والحمى الصفراء ، والانفلونزا وبعض الأمراض الأخرى .

### طريقة جلطة البلازما Plasma clot method

تترك كمية من الدم لتتجلط ثم تلقح البلازما الناتجة فوق الجلطة بالفيروس وقد حورت هذه الطريقة بوضع الجلطة في كيس مثقب من الكولوديون



وتلقح بالفيرس وهى داخل الكيس . والخلايا الموجودة بالبلازما تستعمل كخلايا عائل للفيرس ليتكاثر بداخلها ولكن عندما تنفرد جزيئات الفيرس من هذه الخلايا فيمكنها أن تخرج خلال غشاء الكولوديون وبذلك يمكن الحصول على تحضير فيرس خاليا من خلايا الدم . وقد أدت هذه الطريقة فيما بعد إلى استعمال طريقة زراعة الأنسجة .

### طريقة زراعة الأنسجة Tissue culture method

وفى هذه الطريقة تستعمل قطع من الأنسجة خالية من التلوث وتزرع فى محلول معقم من الأملاح والجلوكوز المضاف إليها الدم أو خلاصات الأجنة embryo juices ثم تلقح الأنسجة النامية بالفيرس المراد تنميته ثم تحضن المزعة لفترة من الزمن . وقد مكنت هذه الطريقة من زراعة الفيروسات فى مزارع نقية والحصول على كميات كبيرة من جزيئات الفيروسات اللازمة لانتاج الفاكسينات . ويتميز الفاكسين المتحصل عليه من الجزيئات الفيروسية الناتجة عن مزارع الأنسجة على تلك المتحصل عليها من مزارع أجنة الدجاج ، فى أن ذلك يقلل بدرجة واضحة من الضرر الناتج عن حساسية الجسم المحصن لزلال البيض . والفاكسين الخاص بالتحصين ضد مرض شلل الأطفال المعروف باسم Salk-vaccine ينتج جزيئات الفيرس اللازمة لإنتاجه فى مزارع أنسجة خلايا الكبد النامية فى مزارع صناعية .

### تطفر الفيروسات

ومن المميزات الهامة للفيروسات قدرتها على التطفر وثبات الطفرات الناتجة . وظهور السلالات الضعيفة ( attenuated ) فى قدرتها على إحداث الأمراض تعتبر نتيجة للتطفر . فقد وجد Pasteur ( ١٨٨٥ ) أن تنمية فيرس مرض الكلب عدة مرات فى مخ الأرانب تقلل القدرة الممرضة لجزيئات هذا الفيرس على إحداث المرض فى الأرانب .

وقد وجد نفس الشيء فى حالة الفيرس المسبب للحمى المعقدة فى البنجر

*Chenopodium* curly top of sugar beets عندما يمرر في نباتات الزربيح *murale* ، فانه يفقد قدرته الممرضة في إصابة نباتات بنجر السكر . وهناك مثال آخر أكثر وضوحا في فيروس موزاييك الدخان ، فاذا أعدت به نباتات طماطم وحفظت النباتات المعده على درجة حرارة ٣٥°م ثم استعملت عصارتها في عدوى نباتات *Nicotinia glutinosa* فهي تسبب بقعا موضعية فقط لأوراق النباتات المذكورة (شكل ١٨٠ - ١١) ولكنها لا تسبب أى مرض لنباتات الدخان بالرغم من قدرة الفيروس على النمو والتكاثر بأنسجة هذه النباتات .

وقد أطلق على مثل هذه السلالات اسم السلالات المستترة *masked strains* ولم يلاحظ بعد قدرة ارتداد هذه السلالات إلى الصورة الممرضة التي نشأت منها .

هذا والفيروسات التي تحمل بواسطة الحشرات قد تضعف قدرتها الممرضة وهي بداخل أجسام الحشرات الناقلة ومثال ذلك فيروس إصفرار نباتات الأستر *Aster yellow virus* حيث يفقد قدرته الممرضة لهذه النباتات إذا حفظت الحشرات الحاملة له على درجة ٣٢°م لمدة ١٢ ساعة .

وقد يصحب حدوث التطفر تغير محتويات جزيئات الفيروس من الأحماض الأمينية في حين أنه لا يختلف محتوياتها من الأحماض النووية . فمثلا وجد أن وجه الاختلاف بين A ، B من فيروس الانفلونزا هو اختلاف محتوياتها من الأحماض الأمينية . كما أن هناك ست سلالات من فيروس موزاييك الدخان لا تحتوى على الهيستدين أو الميثايونين في حين أن السلالة المميتة *lethal strain* من هذا الفيروس تحتوى على هذين الحمضين الأمينيين . وعادة لا يختلف التركيب الانتيجيني للسلالات الفيروسية حيث أن السلالات المعروفة لفيروس موزاييك الدخان TMV تتشابه في تركيبها الانتيجيني . وحدث تطفر في الفيروسات كما هو الحال بالبكتيريا والدروسوفيليا يحدث تلقائيا أو عفويا . وبدون شك

فان عددا كبيرا من هذه الطفرات قد يمر بالطبيعة بدون ملاحظة . ومعدل التطفر في الدروسوفيلا يقدر في المتوسط بحوالى ١ / مليون حشرة ، وفي البكتيريا ١ / مائة مليون خلية / دورة انقسامية . وحيث أن النبات المصاب بالفيرس قد يحتوى على مايقرب من ١٠<sup>١٢</sup> جزيئ تنتج عن كمية صغيرة في اللقاح فاننا نتوقع وجود طفرات فيروسية يتراوح معدلها بين ١ / عشرة آلاف إلى ١ / مليون جزيئ فيرسى . ومن المعروف أن طفرات الفيرس تنمو بدرجة أبطأ من الجزئيات الأصلية التى نشأت عنها . وهذا قد يثير الاستفسار عن مدى مآتنيه كلمة نمو في حالة الفيروسات . ويبدو من الناحية السطحية غير الدقيقة أن المقصود بالنمو هو التبلور . حيث يعمل اللقاح كالنواة التى تبدأ منها عملية التبلور التى توفر لخلايا العائل المواد اللازمة والتى يمكنها التبلور ، ولكن هذا غير صحيح بدليل أن الفيروسات لا يمكنها أن تتكاثر بهذا الطريق في الدم المصاب عندما يستخرج من الحيوان أو في عصارة النبات المصاب عندما تستخلص منه . فلكي تنمو جزئيات الفيرس وتتكاثر يشترط وجودها بالخلايا الحية . من ذلك نرى أن الجزئيات الفيروسية ليست مجرد بلورات كيميائية تتكاثر تلقائيا من نفسها self-reproducing ولكنها تحدد الطريق لتكاثرها بمعنى أنها تؤثر على خلايا العائل لكي ينتج المواد اللازمة لها ، فهى بمثابة منظم أو مصمم للنظم الانزيمية لخلايا العائل مسخرة أياها لصالحه . والفيرس لا يعمل على تحويل البروتين النباتى إلى بروتين فيرسى ، بل على حث النبات على تكوين بروتين فيرس من جديد . ويبدو أن سلوك الفيروسات في الخلايا المصابة يشبه كثيرا سلوك العوامل الوراثية genes حيث أن لها القدرة على التكاثر الذاتى وعند وجودها بالعائل فهى تفرض إرادتها على خلاياه لتكوين المزيد من مواد الفيرس البنائية . هذا وحجم الجينات يقارب حجم جزئيات الفيرس (٥٠ ميللى ميكرون في المتوسط) وأحيانا تعتبر الفيروسات جينات سائبة أو منفصلة عن الكروموسومات وهى في هذه الحالة يطلق عليها العوامل القابلة للتشيخ أو عوامل التحويل (راجع الباب الرابع) . ويجب أن نذكر هنا أنه لم يشاهد أى نشاط تنفسى للتحضيرات الفيروسية مهما كان تركيزها .

## طرق مقاومة الفيروسات

بما أن كل الفيروسات تسبب أمراضاً للنبات أو الحيوان لذلك فمن اللازم ، إلا في الحالات الخاصة التي تقوم فيها الفيروسات باصابة الآفات المختلفة وتعمل على اهلاكها ، إيجاد طرق لايقاف النشاط الضار للفيروسات ومن السهل جدا إهلاك الوحدات الفيروسية أثناء واحد أو أكثر من الأطوار المختلفة التالية : (١) قبل دخولها لخلايا العائل ، (٢) أثناء دخولها لخلايا العائل (٣) أثناء تكاثرها بداخل خلايا العائل .

## التحصين Immunization

إذا أمكن تحصين جسم الحيوان بالأمصال المحتوية على الأجسام المضادة للفيروسات الممرضة ، يمكن لهذه الأجسام المضادة أن تتحد بجزيئات الفيروس قبل وصوله إلى خلايا العائل ويمكن بذلك احباط النشاط المرضي لجزيئات هذا الفيروس . والتحصين الفعال الذي قد يحدث عقب عدوى الخلايا بالفيروسات قد يمنع أيضاً مهاجمة مثل هذه الفيروسات للأجسام المحصنة ، كما أن تلقيح الحيوانات بالفيروسات المضعفة يمكنها اعطاء نفس التأثير . وإذا كانت كل الأمراض الفيروسية يمكن التحصين ضدها بهذه الطريقة كما يحدث في حالة التحصين ضد مرض الجدري مثلاً ، إذن فليس هناك أى داع لإيجاد طرق أخرى لمقاومة الأمراض الفيروسية التي تصيب الانسان والحيوان ولما كان هذا ليس هو الواقع لذلك فهناك طرق أخرى للمقاومة .

## المقاومة الكيماوية

هناك بعض أنواع الفيروسات تتطلب وجود بعض المواد الكيماوية لحدوث ادمصاص جزيئات الفيروس بخلايا العائل . فمثلاً بعض سلالات الفيروس البكتيري التي تهاجم البكتيريا *E. coli* يتطلب وجود التربتوفان ليتم الادمصاص بخلايا العائل . وحيث أن بعض الفيروسات البكتيرية تتطلب أيونات الكالسيوم

لحدوث الادمصاص فانه يمكن ايقاف هجوم هذه الفيروسات على الخلايا .  
البكتيرية باضافة بعض المواد التى تجعل الكالسيوم بها فى صورة غير صالحة  
للفيرس .

وقد ذكر أن هناك أمكنه تخصصية على الخلية لحدوث الادمصاص .  
وقد أمكن تغيير الأماكن المتخصصة لاستقبال جزيئات الفيرس عن طريق  
انزيم يعرف باسم RDE receptor destrouying enzyme (RDE) وأمكن عن  
هذا الطريق منع إدمصاص جزيئات الفيرس على خلايا العائل . ومن أمثلة  
ذلك أمكن تغيير مواضع استقبال جزيئات فيرس الانفلونزا على خلايا رئة  
فئران التجارب باعطائها الأنزيم (RDE) عن طريق الفتحات الأنفية . وقد  
وجد أيضاً أن بعض عديدات السكر يكون لجزيئاتها القدرة على ادمصاص  
جزيئات الفيرس ، فوجود مثل هذه المركبات فى أنسجة العائل تعمل بطريقة  
تنافسية على منع ادمصاص جزيئات الفيرس بخلايا العائل .

وحيث أنه من غير المتوقع منع كل جزيئات الفيرس من مهاجمة خلايا  
العائل لذلك فيجب أن تتبع بعض الطرق التى من شأنها منع أو ايقاف نكاثـر  
الفيرس داخل خلايا العائل ، وقد تبدو هذه الطريقة صعبة التحقيق ولكن  
الحقيقة المعروفة عن اختلاف البروتينات النووية الفيروسية virus nucleoproteins  
عن البروتينات النووية لخلايا العائل قد سهلت كثيراً من هذا الاجراء . فاذا  
وجدت مادة يمكنها أن تتدخل فى تجهيز البروتينات النووية للفيروسات ولكنها  
لا تؤثر على تكوين البروتينات النووية لخلايا العائل فيمكننا بذلك ايقاف تكاثر  
الفيرس . وليس من السهل ايجاد مثل هذه المادة ذات التأثير الاختيارى أو  
التفريقى حيث أن العمليات البيوكيائية الطبيعية للخلايا وكذا تكوين جزيئات  
الفيرس بداخلها تكون مترابطة بدرجة كبيرة . وبدراسة الفيروسات البكتيرية  
وجد أن بعض مشابهاة الأحماض الأمينية مثل حمض التربتوفان ، الفينيل  
الأنين ، يمكنها أن توقف تكون جزيئات البكتيريوفاج ، كما وجد أيضاً بدراسة



الفيروسات الحيوانية أن مادة الاثيونين Ethionine يمكنها أن تقلل تكاثر جزيئات فيروس الأنفلونزا ويمكنها إيقاف تكاثر فيروس شلل الأطفال كلية في مزارع الأنسجة .

وقد ثبت أن البكتيريا *Klebsiella pneumonia* تفرز عديدات تسكر لها القدرة على منع تكاثر الفيروس المسبب لمرض التهاب الغدد النكفية (Mumps) وكذلك تكاثر الفيروس المسبب للالتهاب الرئوي للفئران عند تنميتها في أجنة البيض كما أنها تمنع تكاثر الفيروس الأخير داخل خلايا العائل المصاب وقد فسر هذا الفعل المانع للتكاثر على أساس حدوث التنافس بين جزيئات الفيروس وعديدات التسكر المفرز على بعض المحتويات الهامة بخلايا العائل .

وهذا وقد أمكن منع تكاثر جزيئات بعض الفيروسات بطرق بيولوجية فاذا دخل فيروس معين إلى الخلية فإنه يحدث تغيرات في المواضع المستقبلية أو قد تتهلك معظم المحتويات الخلوية اللازمة لدخول وتكاثر الأنواع الفيروسية الأخرى .

وقد أمكن استغلال هذه الظاهرة في عمليات مقاومة الأمراض الفيروسية حيث أمكن تلقيح حيوانات التجارب بسلالة مضعفة ومأقلمة على النمو في جنين من الفيروس المسبب لمرض canine-distemper في الماشية ، والتي ليس لها القدرة على إحداث المرض . ولكن يمكنها التكاثر في خلايا العائل وتتنافس هذه السلالة بدرجة ملحوظة وواضحة مع السلالات الممرضة من نفس الفيروس على المحتويات الخلوية للعائل ونتيجة لذلك لا يحدث المرض .

وفي الفيروسات الحيوانية أيضاً نجد أن الإصابة تكون محدودة حيث أن النظام الدفاعي للجسم يعمل على تكوين الأجسام المضادة التي تهلك الجزيئات الفيروسية المهاجمة . ولكن في حالة الإصابات النباتية يبدو أن هناك طرقاً أخرى يدافع بها النبات عن نفسه تجاه الفيروس المهاجم . وتغلب النباتات على الإصابة قد يتم عن طريق تغيير العمليات الأيضية في خلايا العائل .

واستعمال المواد الكيماوية السامة لمقاومة الأمراض الفيروسية لم تلاق نجاحاً كبيراً حيث أن الجزيئات الفيروسية تكون غير فعالة فسيولوجياً عندما تتواجد خارج خلايا العائل ، كما أنها تكون محمية بدرجة كبيرة أثناء وجودها أيضاً بخلايا العائل .

وعلى العموم فالمادة الكيماوية التي يمكن استعمالها في مقاومة الفيروسات داخليةً antiviral chemotherapeutic substance يشترط فيها مايلي من خصائص :

١ - يجب أن يكون لها القدرة على قتل الفيروس قبل وصوله إلى خلايا العائل أي قبل أن يصبح في مأمن من فعل المادة الكيماوية .

٢ - يجب أن تعمل على منع التصاق أو ادمصاص جزيئات الفيروس بخلايا العائل .

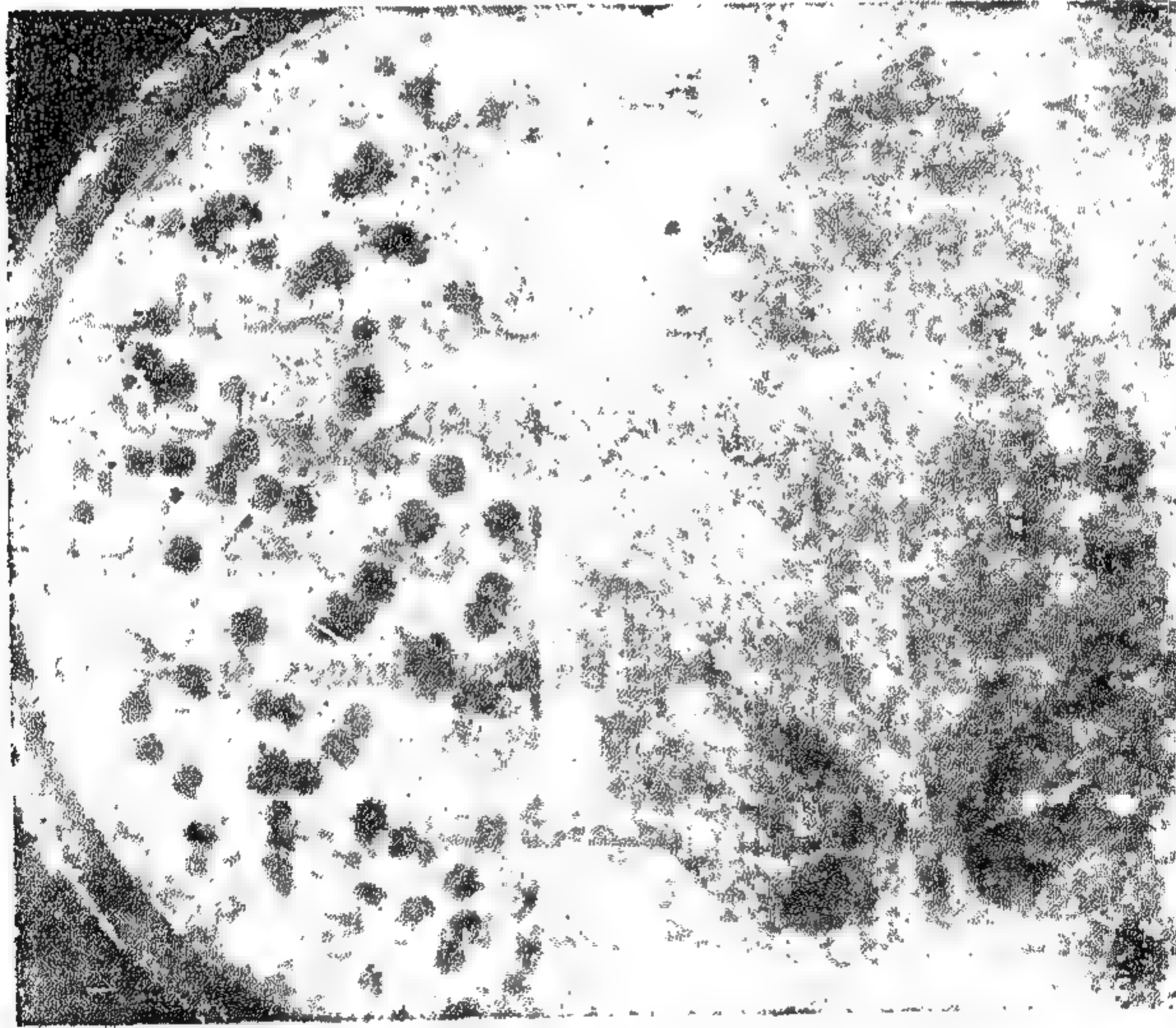
٣ - يجب أن تتدخل وتوقف عمليات تخليق مواد فيروسية لازمة لانتاج المزيد من جزيئات الفيروس داخل خلايا العائل .

٤ - يجب أن لا تضر خلايا العائل .

#### الفيروسات البكتيرية Bacteriophages

مجموعة من الفيروسات متخصصة باصابة الخلايا البكتيرية وتكاثر بداخلها . وهي كما سبق أن بينا تصنف تحت الرتبة Subor Phagineae وكان d'Herelle (١٩٢٦) أول من لاحظها عندما شاهد ظهور مناطق خالية من النمو « Plaques » في بعض المستعمرات البكتيرية حيث تتحلل الخلايا البكتيرية في هذه المواضع . كما وجد أيضاً أن العامل المسبب للتحلل يمكن نقله إلى مزارع بكتيرية جديدة حيث يمكنه أن يتكاثر ويزداد تعدادها بها . وقد اقترح d'Herelle اسم بكتيروفاجات Bacteriophage لهذا العامل والاسم يعني آكلات البكتيريا bacteria-eaters .

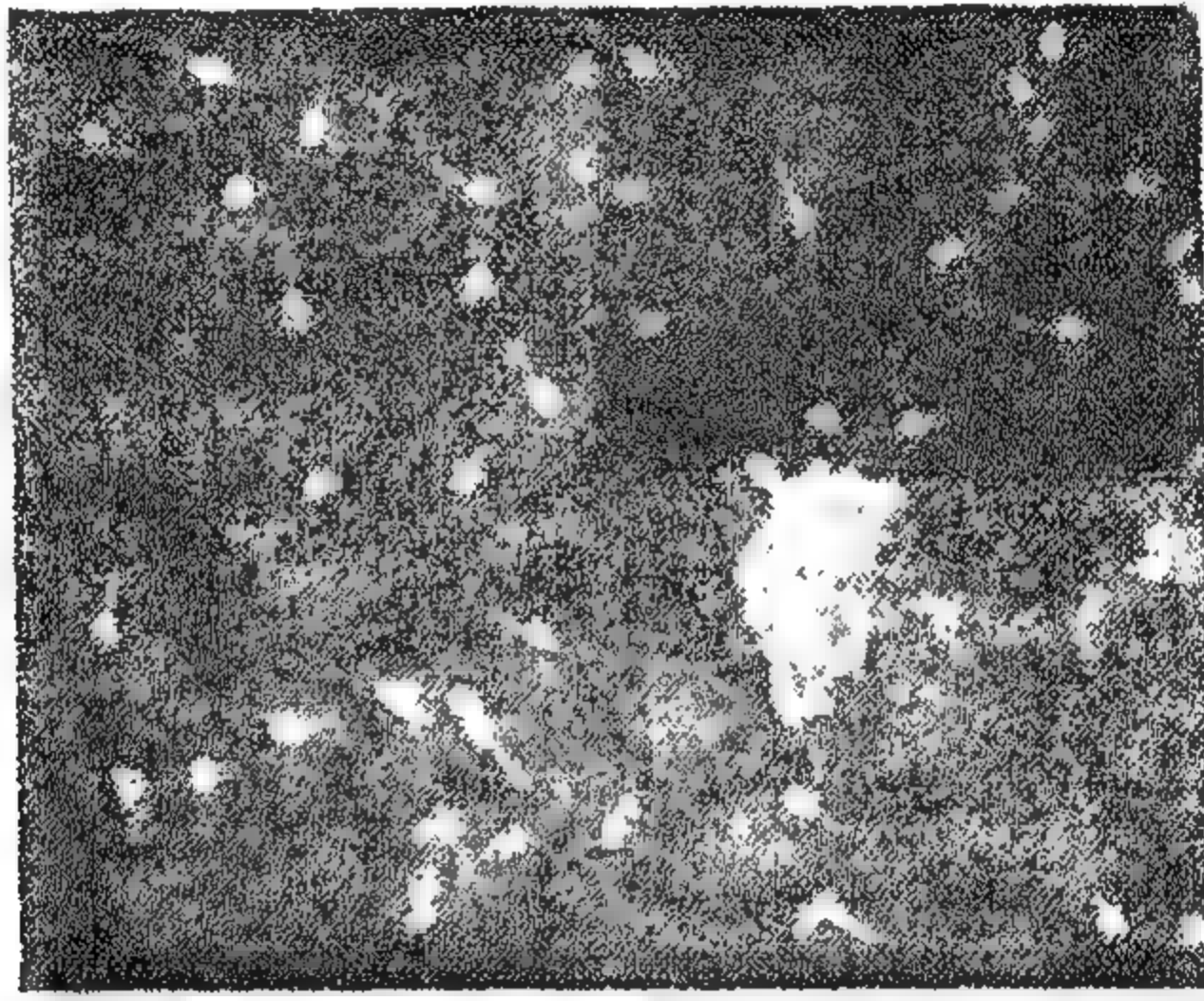
ويمكن عزل الفيروسات البكتيرية (البكتيريوفاجات) مباشرة من مياه الأنهار ، وبراز الإنسان أو الحيوان ، ومياه أنجاري ، ومن الأرض ، كما يمكن ذلك أيضاً في بعض الأحيان من المزارع البكتيرية القديمة. والبكتيريوفاجات تتطفل على أنواع بكتيرية عديدة مؤدية إلى تكون مناطق خالية من النمو على البيئات الصلبة (شكل ١٨٣ ب) . أو مسببة لإزالة تمكير المزارع السائلة . ويمكن تقدير عدد جزئيات البكتيريوفاج بطرق شبيهة بتلك الخاصة بتقدير تعداد جزئيات الفيروسات . (١) طريق التخفيف إلى الحد الأدنى الذي يحدث ترويق للمزارع البكتيرية السائلة : (٢) تقدير عدد المناطق الرائقة Plaques التي تتكون بالمزارع الصلبة والتي تكون قد اتمحت بانتظام بكمية كبيرة من اللقاح البكتيري (شكل ١٨٣ - ب) .



شكل ١٨٣ : لوحة مختارفة تكون المناطق الخالية من النمو plaques في مزارع البكتيريا بالبقع الخلية التي تنشأ عن إصابة أوراق النباتات بتحضيرات فيروسية. وفي أدلة الخلقين يمكن عن طريق العد المباشر تقدير درجة تركيز التحضير النيرسي (١) ورقة من نبات *Nicotinia glutinosa* بعد غمرها بتحضيرين مختلفي التركيز من أحد سلالات فيروس موازيبك الدخان ، النصف الأيسر من الورقة أعدي بتحضير ذو تركيز ١ ملجرام / مل ، النصف الثاني من الورقة أعدي بتحضير ذو تركيز ١٠ ملجرام / مل . (ب) مناطق خالية من النمو البكتيري في مزرعة لأحد أنواع الجنس *Rhizobium* بعد غمرها بتحضير من الفيروس البكتيري .



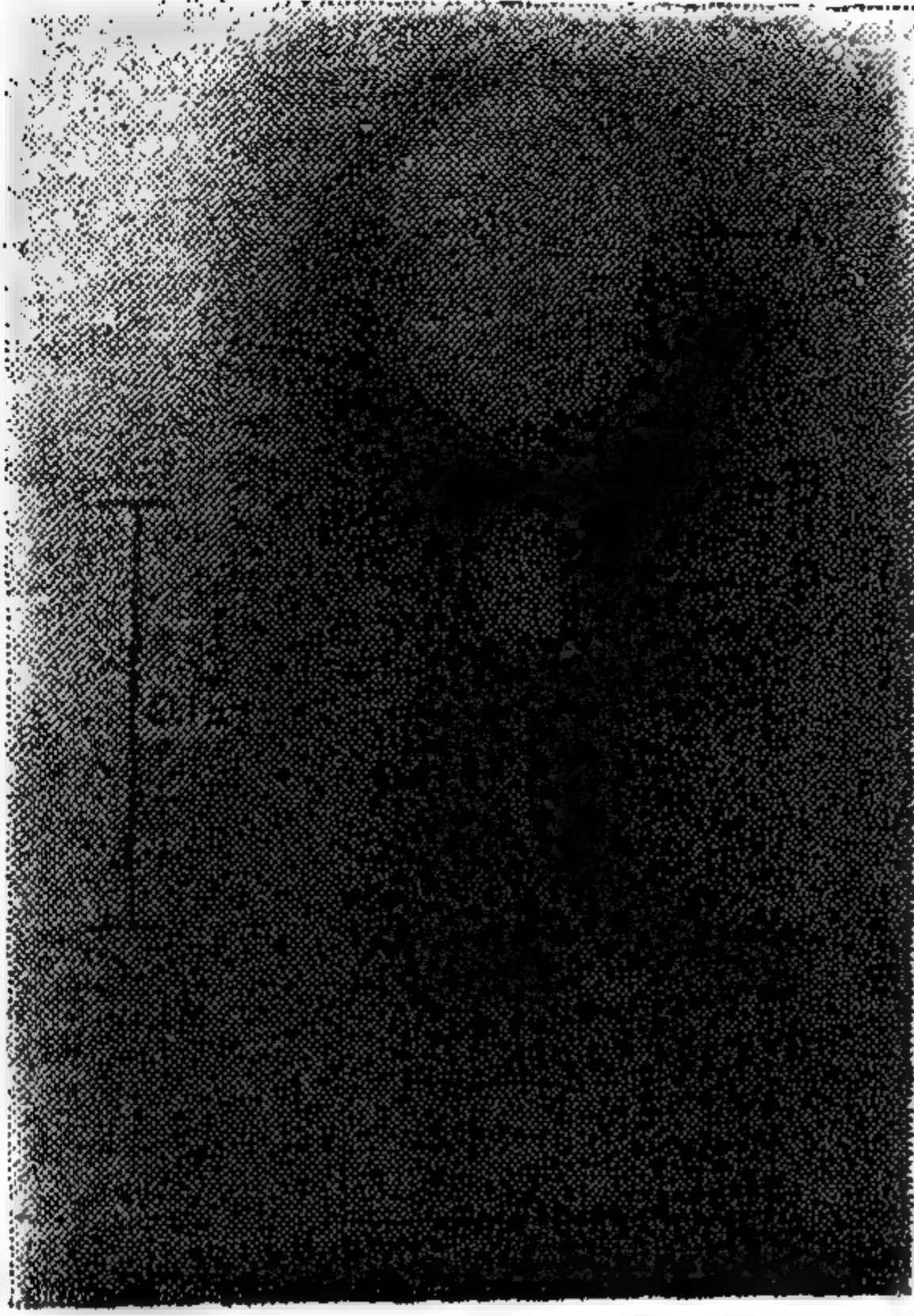
وفي كلا الطريقتين فإنه عقب ادمصاص جزيئات الفيروس البكتيري ، وتأديته لوظيفته التحليلية للخلايا ، يجد أن الخلايا المقاومة لفعلها تبدأ في التكاثر لتسبب تحكيرا جديدا للمزرعة السائلة أو مستعمرات صغيرة ثانوية بداخل المناطق الخالية من النمو Plaques بالمزارع الصلبة. وهذه الخلايا المقاومة تمثل طفرات تلقائية تتكون في المجموع الحساس لفعل البكتيريوفاج وليس نتيجة للتطبع أو التأقلم للنمو في وجود البكتيريوفاج كما كان يعتقد من قبل. والطفرات المقاومة للفيروسات البكتيرية تستعمل كثيرا في الدراسات الوراثية .



شكل ١٨٤ : صورة الكتروميكروستوبية لبعض جزيئات الفيروس البكتيري T2 -  
للسلالة T2 : (تظهر بالتركيب الميكرومتر) لاحظ الرأس والذيل . لاحظ أيضا انطراق عدد كبير من الجزيئات من خلية بكتيرية تدور تحتها .

وقد تم دراسة طريقة عمل البكتيريوفاجات على خلايا البكتيريا باستعمال المجهر الضوئي والألكتروني مع إجراء عدد للخلايا البكتيرية وجزيئات الفيروس البكتيري . وقد تبين أن التصاق جزيئات الفيروس بخلايا البكتيريا يحدث مباشرة بعد عدوى المزرعة وقد وجد أن الوحدة الفردية من الفيروس البكتيري التابع للسلالة T والخاص باصابة البكتيريا *E.coli* يتخذ شكل الحيوان المنوي بمعنى أن يكون له رأس مستدير أو ذا عدة أوجه Polyhedral متصلة بذيل رفيع (شكل ١٨٤ ، ١٨٥) .

وقد وجد أن متوسط قطر رؤوس جزيئات الفيروسات البكتيرية التابعة



شكل ١٨٥ : صورة الكتروميكروسكوبية  
تبين تفاصيل تركيب جزيء واحد من  
الفيروسات البكتيرية التابعة لمجموعة T -  
لاحظ الرأس A كما يلاحظ اتصالها بالمحور  
الرئيسي للجزيء والمشار إليه B C  
ألياف الذيل tail fibers لاحظ اتصالها  
بالطرف الآخر من المحور الرئيسي للجزيء  
D تمثل الغلاف المنقبض Contracted  
sheath المغلف للذيل .

للمجموعة T تصل إلى ٤٠ انجسترام  
ومتوسط قطر الذيل ١٠٠ انجسترام  
والأخير يصل متوسط طوله في هذه  
المجموعة من الفيروسات إلى ١٦٠٠  
انجسترام (شكل ١٨٥) . ومن الناحية  
الكيمائية . فإن هذه الوحدات تتكون  
من البروتين و DNA والجزيئات الكاملة  
لا تتأثر بفعل الإنزيمات المعروفة باسم

nucleases  
(DNA ase or RNA ase)

ويمكن انفصال البروتين عن DNA  
في جزيء الفيرس بجملة طرق . وقد  
وجد أن DNA يتواجد بمركز الرأس  
ويكون محمياً بغلاف من البروتين أما  
الذيل فهو يتكون من البروتين . وقد  
وجد أيضاً أن مكان اتصال جزيء  
الفيروس البكتيري بالخلية البكتيرية  
هو نهاية الذيل . وتشاهد عادة  
وحدات فيروسية متصلة بسطح

الخلية البكتيرية المصابة (شكل ١٨٦) عن طريق أطراف ذيولها . والعدوى  
تم بحقن DNA الفيرسي بداخل سيتوبلازم الخلية البكتيرية . ويتبقى الغلاف  
البروتيني من الجزيء الفيرسي خارج الخلية . وقد وجد في حالة مجموعة T  
من الفيروسات أن الذيل يمكنه الانقباض أثناء عملية حقن DNA الفيرسي بداخل  
الخلايا البكتيرية .

كما لوحظ أن عدداً كبيراً من هذه الجزيئات يدمص أو يلتصق بالخلية





شكل ١٨٦ : الصورة العليا - لبعض خلايا البكتيريا *E. coli* يدمص سطحها عدد من جزيئات فيروسية تابعة للمجموع T4 الصورة السفلى : صورة مكبرة لأجزاء من البكتيريا *E. coli* يدمص عليها جزيئات من الفيروس البكتيري . لاحظ الرأس ذو السطوح المتعددة ، ولاحظ أن الالتصاق يكون عن طريق الذيل .

البكتيرية الواحدة (شكل ١٨٦). وقد وجد أن الادمصاص أو الالتصاق هو عبارة عن عملية كيميائية في حالة الفيروسات التابعة لمجموعة T الخاصة بإصابة البكتيريا *E. coli* لوحظ أن وجود tryptophane ضروري لحدوث هذا الارتباط أو الادمصاص كما وجد أيضاً أنه قد يكون لبعض مشتقات الحمض الأميني المذكور نفس التأثير على حدوث الادمصاص ومن الغريب أن مركب الأندول indole والذي يمكن لخلايا البكتيريا أن تنتجه بتحليلها للتربتوفان يمنع حدوث الادمصاص ، وهذا قد يدعونا

إلى الاعتقاد أن الخلايا البكتيرية تمتلك وسيلة الدفاع عن نفسها تجاه الفيروس المهاجم . وقد وجد أن بعض جزيئات الفيروسات البكتيرية تتطلب وجود أيونات الكالسيوم لكي تدمص على خلايا عائلها البكتيري . وكما سبق أن ذكرنا أن هناك حالة مشابهة في الفيروسات الحيوانية حيث تتطلب جزيئات فيروس الأنفلونزا التي تنمو داخل خلايا الدم وجود سكريات معينة لتصل وتدمص بكرات الدم الحمراء للعائل .

وعقب حدوث الادمصاص لا يحدث أي تغير لمدة عشرين دقيقة (في حالة الفيروسات البكتيرية لمجموعة T والتي تصيب البكتيريا *E. coli* على درجة ٣٧° م) ثم يشاهد زيادة مفاجئة في عدد وحدات الفيروس البكتيري

وقد أمكن أيضاً من الدراسات الالكتروميكروسكوبية مشاهدة انتفاخ الخلايا البكتيرية ثم انفجارها لينطلق منها عدد كبير من جزيئات الفيروس البكتيري ويعرف هذا النوع من الفيروسات بالفيروسات التحلالية Iytic bacteriophages .

وفرة الركود ( ٢٠ دقيقة ) التي تلاحظ في حالة إصابة البكتيريا *E. coli* ببعض سلالات ( ت T ) من الفيروس ، قبل عدوى الخلايا وانفجارها يبدو أنها لازمة لتكاثر جزيئات الفيروس داخل الخلايا ، وهذه العملية في حد ذاتها ( أعنى التكاثر ) عملية تبدو معقدة ، حيث أنه في الدقائق الأولى عقب العدوى لا تشاهد جزيئات فيروسية كاملة إذما كسرت الخلايا خلال فترة الركود بل يشاهد أجسام مبدئية لجزيئات الفيروس Prophage كما قرر دورمان Doermann ( ١٩٥٤ ) أنه في حالة الإصابة تظل الطبقة البروتينية المغلفة لجزيء الفيروس البكتيري خارج الخلية وأن ما يدخل إليها ويتكاثر بداخلها هو محتويات جزيء الفيروس البكتيري من الأحماض النووية . وقد يحدث ارتباط وراثي genetic combination مع الأحماض النووية الأخرى المتواجدة بالخلايا وقرب انتهاء فترة الحضانة يمكن ملاحظة الزيادة الفعلية في عدد جزيئات الفيروس البكتيري داخل الخلايا المصابة . ومن الملاحظ أيضاً أن تكاثر جزيئات الفيروس البكتيري لا يتم بداخل الخلايا الميتة .

وبعض الفيروسات البكتيرية لا تقضي كلية على مزرعة العائل ولكنها تحلل فقط عدداً من خلاياها . والخلايا التي لا تتحلل قد تحمل جزيئات الفيروس البكتيري وعند نقل لقاح منها إلى بيئة جديدة يحدث أن يؤثر الفيروس المنقول على عدد قليل من خلايا المزرعة الجديدة أيضاً وبخاصة عندما تتقدم المزرعة في السن .

وفي الحقيقة فإن البكتيريوفاج يتكاثر بدرجة محدودة في خلايا العائل وبذلك فهو يعيش بداخلها إلى ما لانهاية ، وتمثل هذه الظاهرة نوعاً من

المعيشة النفعية symbiosis ويعرف هذا النوع من البكتيريوفاج باسم temperate or lysogenic type تتميز له عن النوع الآخر من الفيروسات التي يعمل على تحليل الخلايا النامي بها ، والمعروفة باسم الفيروسات التحلالية Virulent or lytic type .

والمزارع البكتيرية التي تصاب بالنوع الاول (lysogenic type) لا يمكنها أن تتخلص من جزيئات الفيروس المتواجدة بداخلها . حيث يبدو أن جزيئات هذا النوع من الفيروسات البكتيرية تكون قريبة أو مرتبطة بالجهاز الوراثي للخلية الحاملة له . وقد وجد أنه في حالة البكتيريات التابعة لجنس *Salmonella* والتي تحمل عادة فيروسات بكتيرية من النوع temperate أن هذه الفيروسات يمكنها أن تحمل الصفات الوراثية من خلية إلى أخرى (راجع ظاهرة transduction )

وكغيرها من الفيروسات فإن البكتيريا يوفاج عموماً تكون ذات قدرة تخصصية مرتفعة الا أنه في بعض الحالات تكون الخلية الواحدة حساسة لفعل نوعين مختلفين من البكتيريوفاج . ويبدو أن هذين النوعين من الفيروسات يتكاثران منفصلان كل عن الآخر داخل الخلية البكتيرية الحاملة لهما . وللفيروسات البكتيرية القدرة على التطفر كغيرها من الفيروسات . ويتم ذلك أثناء تكاثرها ، وعن طريق التطفر يمكن انتاج سلالات جديدة يمكنها مهاجمة عوامل جديدة لم تكن قادرة على مهاجمتها من قبل ، وما من شك في أن للتوازن الطبيعي بين الفيروسات البكتيرية وعوائلها البكتيرية دوراً كبيراً في درجة انتشار وتأقلم عوائلها البكتيرية بالطبيعة .

دورة تكاثر الفيروسات البكتيرية التابعة للنوع المعروف باسم

Temperate or lysogenic

عندما تصاب خلية بكتيرية بجزيئات فيروسية من النوع التحلالي lytic type فإن ذلك يؤدي إلى تكوين جزيئات فيروسية بأعداد كبيرة داخل الخلية

المصابة وبعد مدة وجيزة تتحلل وتنطلق الخلية منها الجزيئات الفيروسية الناضجة التي يمكنها أن تصيب خلايا جديدة .

وفي حالة الإصابة بالنوع الآخر من الفيروسات temperate أو lysogenic فإن العدوى عادة لا تقتل الخلية ، ولكن الجزء الفيروسي المهاجم يمكنه أن يندمج مع المحتويات الوراثية للخلية البكتيرية الحاملة له بطريق وراثي يعرف باسم genetic symbiosis وبالرغم من قدرة الفيروس في هذه الحالة على الالتصاق بالخلايا إلا أنه لا يتكاثر بداخلها ولا يؤدي إلى تحللها .

والكثير من السلالات البكتيرية التي تعرف بكونها lysogenic هي تلك التي تحمل في تركيبها الوراثي القدرة على انتاج واحد أو أكثر من الفيروسات البكتيرية النشطة والتي يمكنها عدوى سلالات بكتيرية أخرى من نفس النوع بطريقة تحللية والأخيرة يطلق عليها السلالات الكاشفة indicator strains فعند تندية عدد قليل من خلايا السلالة lysogenic على بيئة صلبة مختلطة بمزرعة من السلالة الكاشفة فإنه يظهر نتيجة لذلك بعض المناطق الخالية من النمو plaques . وبالرغم من الحقيقة المعروفة بأن الفيروس البكتيري الناتج لا يمكنه التكاثر في الخلايا lysogenic ولا يقدر على تحليلها إلا أنه يمكنه ذلك مع خلايا السلالات الكاشفة . وعادة يمكن عزل بعض بكتيريات من السلالة الأصلية تعرف بأنها nonlysogenic بمعنى أنها تكون حساسة للفيروس البكتيري الناتج . وعند زراعة هذه البكتيريات في وجود الفيروس فإنه تتكون مناطق خالية من النمو plaques يمكن أن يشاهد بها عدد قليل من المستعمرات الصغيرة الحجم . وعند عزل هذه المستعمرات الصغيرة واختبرها نجد أنه يمكن تمييزها إلى نوعين من الخلايا ( شكل ١٨٧ ) .

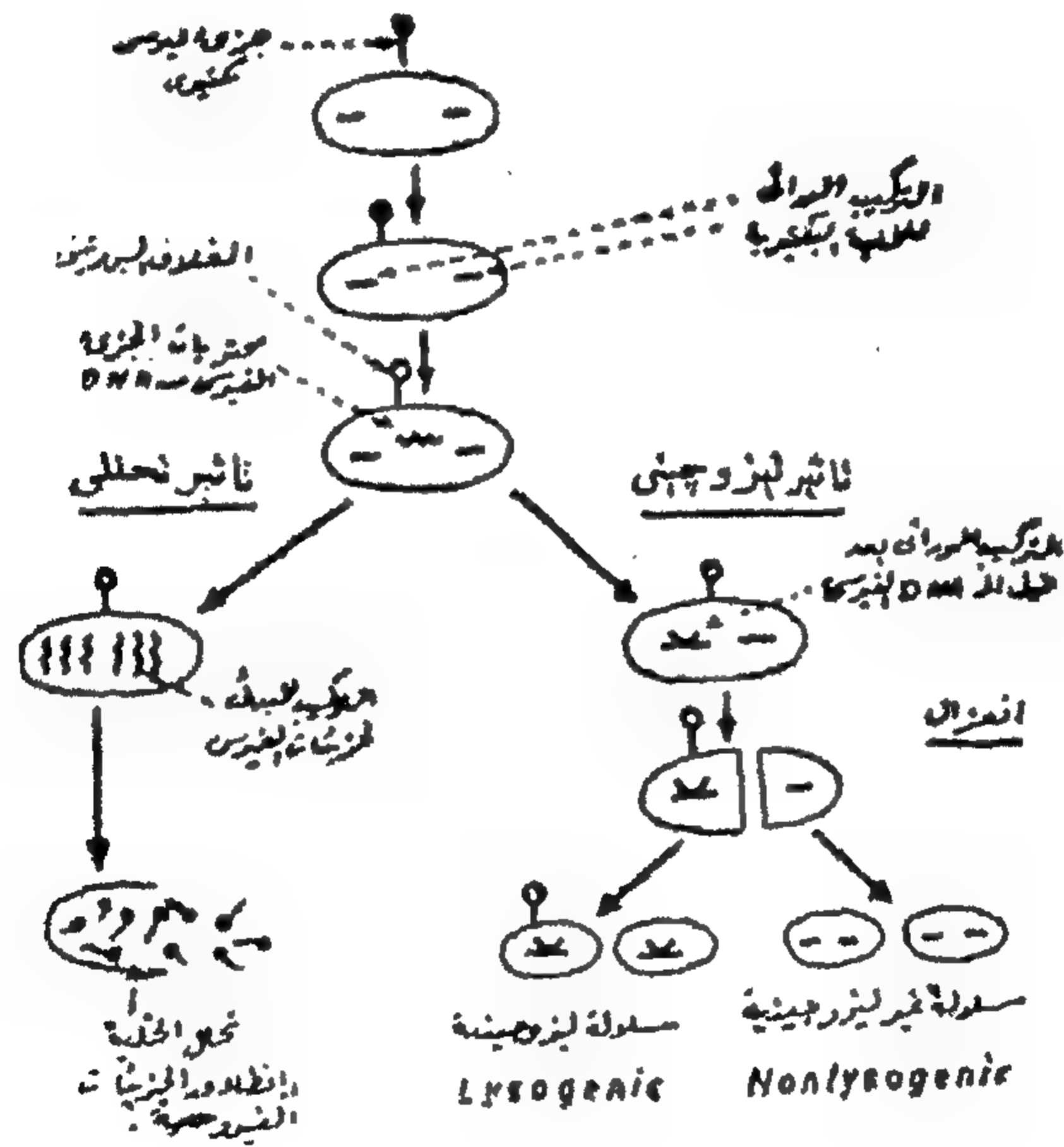
١ — خلايا nonlysogenic وهذه تمثل طفرة مقاومة لجزيئات الفيروس



بمعنى أنه لا يدمص عليها جزيئاته وهذه لا يمكنها الدخول والاندماج بالمحتويات الوراثية للخلايا وأنها لا تنتج جزيئات فيروسية جديدة .

٢ — خلايا lysogenic لجزيئات الفيروس حيث أنها تكون قادرة على إنتاج جزيئات فيروسية ولكنها لا تتحلل بمعنى أنها تكون مقاومة للتحلل من فعل الفيروس الذي تكونه .

ويبدو أن دورة الفيروسات التابعة للمجموعة « temperate » أكثر تعقيدا من دورة الفيروسات التحللية « virulent or lytic »



شكل ١٨٧ : رسم تخطيطي لدورة الفيروسات التابعة للنوع temperate تبين ادخال جزيئات الفيروس وطريق دخول DNA الفيروسى إلى الخلية وحدوث التأثير التحللى للخلية السلافة الكاشفة والتأثير الاليزوجينى للخلية الأصلية المكونة لجزيئات الفيروس . لاحظ إمكان عزل سلالات لا يزوجينية وغير لا يزوجينية .

هذا وكيفية تكاثر الفيروسات بداخل الخلايا الحساسة لها ( indicator strains ) يمكن أن يفسر بأحد التأثيرين التاليين ( شكل ١٨٧ ) :



(١) تتكون الجزيئات الفيروسية الجديدة بطريقة تحللية lytic response تشبه تلك التي تحدث في حالة الفيروسات التحللية .

(٢) تتكون جزيئات الفيروس الجديدة تحت تأثير ليزوجيني lysogenic بمعنى أن DNA الفيروسى يظل بالخلية فترة من الزمن يندمج فيها على صورة وحدات مبدئية prophage مع النظام الوراثى للخلية البكتيرية ثم يتكاثر معه ليكون السلالة الليزوجينية lysogenic strain .

ويبين ( شكل ١٨٧ ) دورة حياة هذا النوع من الفيروسات وكمية حدوث التأثيرات المختلفة السابقة الذكر .

### أهمية الفيروسات البكتيرية فى الدراسات البكتريولوجية

ان دراسة الطفيليات الاجبارية والى منها الفيروسات البكتيرية تعتبر ذات فائدة مزدوجة فهى تضيف إلى معلوماتنا من ناحية خصائص الطفيل نفسه علاوة على إضافتها مزيدا إلى المعلومات الخاصة بالعائل . وفيما على سوف نرى كيف أمكن عن طريق دراسة الفيروسات البكتيرية التعرف على كثير من الخصائص البكتيرية ، مثل التماثل الوراثى ، وطبيعة الجدر الخلوية .

### ١ - التعرف على طرز البكتيريا باستعمال البكتيريوفاج

Typing bacteria with bacteriophages

للبيكتيريوفاج أهمية كبيرة فى الدراسات البكتريولوجية العملية ، وبخاصة فى دراسة البكتيريات المسببة للأوبئة المختلفة . مثل تحديد سلالات بكتيريات القولون باستعمال الفيروسات البكتيرية التخصصية التى يفضل استعمالها على الطرق القديمة للميزات التالية :

(١) أنها ثابتة بدرجة كبيرة .

(٢) يمكنها إظهار الفروق البسيطة بين السلالات والتي لا يمكن للطرق السيرولوجية إظهارها . فباستعمال الفيروسات البكتيرية أمكن إلى الآن التعرف على ٣٣ طرز من البكتيريا *Salmonella typhi* وبدون شك سوف يكتشف منها المزيد بتقدم الأبحاث في هذا الطريق وقد ثبت أهمية البكتيريوفاج في التعرف على سلالات البكتيريا *S. paratyphi* والبكتيريا *staphylococci*

وعلاوة على ذلك فالكثير من السلالات البكتيرية أمكن تمييزها عن طريق انواع الفيروسات البكتيرية التي تحملها بطريقة غير تحالية lysogenic مثل السلالات الممرضة من البكتيريا *Corynebacterium diphteriae* وقد استغللت البكتيريوفاج أيضاً في التعرف على سلالات البكتيريا الممرضة للنبات مثل سلالات البكتيريا *Erwinia amylovora* .

#### دور الفيروسات البكتيرية في تصنيف وتعريف البكتيريا

كما سبق أن بينا أنه يعترض تصنيف البكتيريا عدة صعوبات منها غياب التكاثر الجنسي في غالبية الأنواع البكتيرية ، لذلك فانه من المستحيل إجراء الاختبار البيولوجي المعروف بالخصوبة النوعية . والتفاعلات السيرولوجية الانتيغينية المتبادلة قد تعين علاقات خاطئة في بعض الأحيان مثل ما يحدث في أنواع الجنس *Proteus* والريكيتزيات المسببة للحمى التيفوسية وعلاوة على ذلك فانه عند انتخاب الطفرات لكائن بكتيري معين يلزم دراسة كل من الصفات المورفولوجية والفسيولوجية والبيوكيميائية للتأكد من أن هذه الطفرات ليست تابعة لمجموعة أخرى مختلفة كلية عن النوع الذي تنطفر .

والنوع الواحد للفيروسات البكتيرية يتكاثر فقط في مجال من البكتيريا شديدة القرابة والتي يمكن له أن يجد فيها الأمكنة المناسبة لادمصاصه كما يجدها الوحدات البروتوبلازمية اللازمة لتكوين DNA الفيروسي الخاص به ، كما يمكن لجزيئاته أن تنضج بداخلها . وكذلك الأمر في حالة البكتيريوفاج lysogenic فقد تجد محتوياتها من الـ DNA في أماكن مناسبة على كروموسومات

العائل بدرجة تمكنه من التكاثر معها حيثما يتكاثر DNA الخاص بالعائل فإذا وجدت سلالتان بكتيريتان تعتبر lysogenic لنفس الفيروس البكتيرى فلا بد أن يكونا على درجة كبيرة من القرابة closely related وغياب مثل هذه الصفة المشتركة بين السلالتين لا يعنى عدم قرابتهما حيث يمكن أن تحدث طفرة يمكنها أن تفسد قدرة البكتيريا التي تتميزها بأنها lysogenic لفيروس بكتيرى معين .

وهناك مجال آخر لاستعمال الفيروس البكتيرى لإظهار القرابة ( وليس عدم القرابة ) بين البكتيريات تتوفر في الظاهرة المعروفة باسم transduction والتي عن طريقها يمكن لجزيئات الفيروس البكتيرى الناضج في سلالة بكتيرية أن تندمج كجزء من كروموسوم الخلية العائلة له وينتقل إلى خلية أخرى حيث يندمج في نظامها الكروموسومى . والسلالات البكتيرية التي يمكنها إظهار نفس الجينات تكون ذات قرابة شديدة . من ذلك نرى أن استعمال البكتيريوفاج في الدراسات البكتيرية يكون بمثابة اختبارات الخصوبة fertility tests التي تجرى في الكائنات الأرقى .

## المراجع

- Anderson, T.F. 1960. "Bacterial viruses — Structure and function" in I.C. Gunsalus and R.Y. Stanier "The Bacteria, Vol. 1" Academic Press, New York and London.
- Bawden, F.C. 1956. Plant viruses and Virus diseases, Chronica Botanica Co. (3rd Ed.).
- Bergery's Manual of Determinative Bacteriology, 1957 R S Breed, E C.D. Murray, and A.P. Hitchens, Williams witkins Co., Baltimore Md. U S.A. (7th Ed.).
- Delbruck, M. 1948. J. Bact. 56 : 1-16.
- d'Herelle, F. 1926. The bacteriophage and its behavior. William and Wilkins Co., Baltimore.
- Doermann. A.H. 1953. The Vegetative state in the cycle of bacteriophage Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 18 :3—11.
- Pelezar, M.J. and R.D. Reid 1946. Microbiology, Mc. Grow-Hill book (2nd Ed.), New York, Torono and London.
- Thimann, K.V. 1961. The Life of Bacteria Macmillan Co. New York (3rdEd.).









## البكتيريا

كائنات حية دقيقة لا ترى بالعين المجردة ، بدأت حياة يوم اذن الله للحياه ان تبدأ علي كوكبنا لأرض . عاشت وتأقلمت في التربة والهواء والماء لا يعيقها ارتفاع ولا يحدها غور أو انخفاض ولا يشنها بعد لمسافات .

عاشت ملازمة للإنسان علي جلده وبداخل معائنه ومصاحبة له في مأكله ومشربه مستترة لا ترى بسهولة لا تعرف بالرغم مما بدا للناس من أثرها نافعا كثر ما يكون النفع وضارا أشد ما يكون الضرر ظلت كذلك مجهولة آلاف السنين لا يعرف منها الا أثرها الي ان اكتشفت العدسات والميكروسكوبات فتولاها لبحث اجيالا واجيال ففرت تفصيلا وصارت علما يدرس له تطبيقاته في شتى ميادين الحياه زراعة وصناعة وطبا ساهمت جميعها في بناء الحضارة ورفاهية بشرية .

